



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**



**FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA**

**CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA**

---

**Tema:** Formulación de un gel a base de extracto de polifenoles obtenidos de la cáscara de *Theobroma cacao* L. con actividad antioxidante.

---

Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo a la obtención del Título de Ingeniera Biotecnóloga, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

**Autor:** Dallyana Shirley Tuitise Varas

**Tutor:** Mg. Danae Fernández Rivero

**Ambato – Ecuador**

**Julio – 2026**

## **APROBACIÓN DEL TUTOR**

Mg. Danae Fernández Rivero

### **CERTIFICA:**

Que el presente Informe Final del Trabajo de Titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimento y Biotecnología

Ambato, 5 de junio de 2026

---

Mg. Danae Fernández Rivero

17XXXXXX09

**TUTOR**

## **AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN**

Yo, Dallyana Shirley Tuitise Varas, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniera Biotecnóloga son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.

---

Dallyana Shirley Tuitise Varas

05XXXXXXXX91

**AUTOR**

## **DERECHOS DE AUTOR**

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga uso de este Informe Final del Trabajo de Titulación o parte de él, un documento disponible para su lectura consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Informe Final del Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.

---

Dallyana Shirley Tuitise Varas

05XXXXXX91

**AUTOR**

## **APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO**

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:

---

**Presidente del Tribunal**

---

Dr. Orestes Darío López Hernández

17XXXXXX64

---

Mg. Manoella Alejandra Sánchez Garnica

06XXXXXX71

Ambato, 19 de junio del 2026.

## DEDICATORIA

*A lo largo de este camino comprendí que alcanzar una meta no significa únicamente celebrar los resultados, sino también aprender a resistir en los momentos en que todo parece más difícil. Hubo días de incertidumbre, cansancio y dudas, pero cada desafío me enseñó a ser más fuerte y a confiar en que el esfuerzo siempre tiene un propósito. En esos momentos, el apoyo de las personas que estuvieron a mi lado fue fundamental, pues sus palabras de aliento, su confianza y su cariño me recordaron que nunca estaba sola. Hoy, al llegar a esta etapa, valoro no solo lo que he logrado, sino también a quienes hicieron posible que siguiera adelante cuando el camino parecía cuesta arriba.*

*Dedico este trabajo en primer lugar a Dios, por ser esa calma en mis días de agobio, a mi mamá Aide, por ser mi refugio seguro, mi mayor ejemplo de amor y la persona a quien siempre puedo acudir en busca de un consejo, una palabra de aliento o un abrazo sincero. Gracias por tu apoyo incondicional, por tu paciencia infinita y por nunca dejarme sola, incluso en los momentos más difíciles, a mi papá Milton porque a su manera me mostró su cariño y por ayudarme cuando menos lo esperé, a mi abuelito Juan por ser un ejemplo de fortaleza, sabiduría y amor. Su vida y sus enseñanzas han dejado una huella invaluable en mi formación personal y profesional y finalmente, a toda mi familia, quienes han sido el pilar fundamental de mi vida. Su amor incondicional, confianza, sacrificio y apoyo constante me han dado la fuerza necesaria para superar cada desafío, levantarme ante las dificultades y alcanzar esta importante meta académica. Este logro también les pertenece a ustedes, porque cada paso recorrido estuvo acompañado de su cariño, sus palabras de ánimo y su fe en mí.*

*Una dedicatoria especial a mí, por ser la muestra propia de que siempre se puede salir adelante a pesar de los momentos difíciles que nos pone la vida, en especial por no rendirme.*

*Con todo mi corazón  
Dallyana*

## AGRADECIMIENTO

*Agradezco a mi mamá, por dejar salir a su niña de casa para que cumpla sus sueños, por el cariño incondicional que traspasaba una pantalla, por nunca dejar de sujetar mi mano, por ser mi apoyo en todo lo que a esta cabeza hueca se le ocurre, te amo mi gordita, gracias por tanto. Agradezco a mi papá y a toda mi familia por ser mi fuente constante de fortaleza y motivación.*

*Agradezco a mis amigos **Justin, Pau, Andrés, John, Zulema** por acompañarme gran parte de este proceso, por ser esa risa escandalosa en clases y por los bonitos recuerdos que han dejado huella en mí.*

*Agradezco especialmente a **Joss, Danny** y **Francisco** que estuvieron presentes en los momentos más difíciles, que me ayudaron a levantarme cuando las fuerzas y el ánimo parecían agotarse. Gracias por cada palabra de aliento, por cada abrazo sincero cuando sentía que no estaba logrando avanzar y por recordarme que era capaz de llegar más lejos de lo que imaginaba. También agradezco cada risa compartida, cada conversación que alivió el estrés y cada momento que transformó los días más pesados en recuerdos más llevaderos.*

*Agradezco a mi Tutora **Mg. Danae Fernández** por compartirme sus conocimientos e instruirme para siempre hacer un buen trabajo y a la **Ing. Carla Peñafiel** por estar siempre dispuesta a ayudarme y capacitarme para el correcto uso de los equipos del laboratorio.*

*Agradezco a quien, sin proponérselo me enseñó que el amor también puede ser una forma de crecimiento. Gracias por haber compartido conmigo una etapa que estuvo llena de aprendizajes, recuerdos que conservaré con cariño y experiencias que contribuyeron a mi crecimiento personal. Gracias por confiar en mis capacidades cuando todavía estaba aprendiendo a confiar en ellas yo misma, por acompañar mis sueños y por recordarme en más de una ocasión que era más fuerte de lo que creía, gracias por hacerme sentir como en casa, Jer.*

*Con todo el corazón*

*Dallyana*

## ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

|                                                                     |      |
|---------------------------------------------------------------------|------|
| APROBACIÓN DEL TUTOR.....                                           | ii   |
| AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN .....                             | iii  |
| DERECHOS DE AUTOR.....                                              | iv   |
| APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO .....                              | v    |
| DEDICATORIA.....                                                    | vi   |
| AGRADECIMIENTO .....                                                | vii  |
| ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS.....                                   | viii |
| ÍNDICE DE TABLAS .....                                              | xii  |
| ÍNDICE DE FIGURAS.....                                              | xiii |
| ÍNDICE DE ANEXOS.....                                               | xiv  |
| RESUMEN EJECUTIVO .....                                             | xv   |
| ABSTRACT.....                                                       | xvi  |
| CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO .....                                    | 1    |
| 1.1. Antecedentes Investigativos.....                               | 1    |
| 1.1.1. Justificación del problema .....                             | 1    |
| 1.1.2 Theobroma cacao L. y características de la cáscara .....      | 2    |
| 1.1.2.1 Generalidades del cacao.....                                | 2    |
| 1.1.2.2 Cáscara de cacao como residuo agroindustrial .....          | 2    |
| 1.1.2.3 Composición química de la cáscara de cacao .....            | 3    |
| 1.1.3 Definición y clasificación de los polifenoles.....            | 3    |
| 1.1.3.1 Estructura química de los polifenoles .....                 | 3    |
| 1.1.3.2 Polifenoles presentes en el cacao .....                     | 4    |
| 1.1.3.3 Actividad antioxidante de los polifenoles .....             | 5    |
| 1.1.4 Métodos de extracción de polifenoles .....                    | 5    |
| 1.1.4.1 Métodos convencionales y no convencionales .....            | 6    |
| 1.1.4.2 Factores que influyen en la extracción de polifenoles ..... | 6    |

|                                                                                          |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1.1.4.3 Extracción asistida por baño ultrasónico .....                                   | 7  |
| 1.1.5 Cuantificación de polifenoles .....                                                | 7  |
| 1.1.5.1 Métodos de determinación de polifenoles .....                                    | 8  |
| 1.1.5.2 Método Folin-Ciocalteu .....                                                     | 8  |
| 1.1.6 Determinación de la capacidad antioxidante .....                                   | 9  |
| 1.1.6.1. Método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) .....                                | 11 |
| 1.1.7 Piel y estrés oxidativo cutánea.....                                               | 11 |
| 1.1.7.1 Estructura de la piel .....                                                      | 11 |
| 1.1.7.2 Estrés oxidativo en la piel .....                                                | 12 |
| 1.1.7.3 Papel de los antioxidantes en la piel .....                                      | 12 |
| 1.1.7.4 Permeación cutánea y liberación de compuestos.....                               | 12 |
| 1.1.8 Formulación de gel .....                                                           | 13 |
| 1.1.8.1 Definición y características de los geles .....                                  | 13 |
| 1.1.8.2. Componentes de un gel.....                                                      | 14 |
| 1.1.8.3. Propiedades fisicoquímicas de geles con extractos naturales .....               | 14 |
| 1.2. Objetivos .....                                                                     | 16 |
| 1.2.1. Objetivo general.....                                                             | 16 |
| 1.2.2. Objetivos Específicos.....                                                        | 16 |
| CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA .....                                                          | 17 |
| 2.1. Materiales .....                                                                    | 17 |
| 2.2. Métodos.....                                                                        | 18 |
| 2.2.1 Extracción polifenoles a partir de la cáscara de la vaina de Theobroma cacao L. .. | 19 |
| 2.2.1.1 Selección, limpieza y preparación de la materia prima .....                      | 19 |
| 2.2.1.2 Secado y molienda del material vegetal.....                                      | 19 |
| 2.2.1.3 Proceso de extracción asistida por ultrasonido .....                             | 19 |
| 2.2.1.4 Cuantificación del contenido total de polifenoles.....                           | 20 |
| 2.2.1.5 Diseño experimental del proceso de extracción.....                               | 21 |

|                                                                                                   |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.2.1.6 Análisis estadístico.....                                                                 | 22 |
| 2.2.2 Determinación de la actividad antioxidante del extracto de polifenoles .....                | 22 |
| 2.2.2.1 Ensayo DPPH.....                                                                          | 22 |
| 2.2.2.2 Elaboración de la curva estándar de Trolox.....                                           | 22 |
| 2.2.3 Elaborar un gel tópico a base del extracto de polifenoles. ....                             | 23 |
| 2.2.3.1 Proceso de concentración del extracto mediante rotavapor.....                             | 23 |
| 2.2.3.2 Desarrollo del gel con incorporación del extracto de polifenoles.....                     | 24 |
| 2.2.3.2.1 Preparación y pesado de los compuestos .....                                            | 25 |
| 2.2.3.2.2 Preparación de la fase acuosa y dispersión del carbopol 940 .....                       | 25 |
| 2.2.3.2.3 Preparación de la fase hidroalcohólica con el extracto .....                            | 26 |
| 2.2.3.2.4 Neutralización del carbopol 940 y formación del gel base. ....                          | 26 |
| 2.2.3.2.5 Incorporación de la fase hidroalcohólica y ajuste de peso. ....                         | 26 |
| 2.2.3.2.6 Envasado, rotulado y almacenamiento.....                                                | 26 |
| 2.2.3.3 Caracterización fisicoquímica y evaluación biológica del producto final .....             | 26 |
| CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....                                                       | 29 |
| 3.1. Análisis y discusión de los resultados .....                                                 | 29 |
| 3.1.1 Extracción de polifenoles a partir de la cáscara de la vaina de Theobroma cacao L.<br>..... | 29 |
| 3.1.2 Determinación de la actividad antioxidante .....                                            | 33 |
| 3.1.3 Elaboración un gel tópico a base del extracto de polifenoles.....                           | 34 |
| 3.1.3.1 Concentración del extracto polifenólico mediante rotavapor .....                          | 34 |
| 3.1.3.2 Formulación de los geles tópicos.....                                                     | 35 |
| 3.1.3.3 Caracterización fisicoquímica de las formulaciones.....                                   | 36 |
| 3.1.3.4 Evaluación de la actividad antioxidante .....                                             | 38 |
| CAPÍTULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....                                                | 42 |
| 4.1. Conclusiones .....                                                                           | 42 |
| 3.2. Recomendaciones.....                                                                         | 43 |

|                    |    |
|--------------------|----|
| BIBLIOGRAFÍA ..... | 44 |
| ANEXOS .....       | 50 |

## ÍNDICE DE TABLAS

|                                                                                                                             |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabla 1</b> Materiales y reactivos empleados en el proyecto de investigación.....                                        | 17 |
| <b>Tabla 2</b> Propuesta de diseño experimental 2 <sup>3</sup> en base al disolvente, relación y temperatura.               | 21 |
| <b>Tabla 3</b> Formulaciones propuestas de gel tópico con extracto de polifenoles. ....                                     | 24 |
| <b>Tabla 4</b> Criterios de aceptación para las propiedades físicoquímicas del gel. ....                                    | 27 |
| <b>Tabla 5</b> Contenido de polifenoles de los diferentes tratamientos.....                                                 | 29 |
| <b>Tabla 6</b> Análisis de varianza para el CTP .....                                                                       | 30 |
| <b>Tabla 7</b> Determinación de la actividad antioxidante .....                                                             | 33 |
| <b>Tabla 8</b> Parámetros obtenidos del extracto concentrado empleado para la formulación del gel tópico.....               | 35 |
| <b>Tabla 9</b> Cantidad estimada de extracto y polifenoles incorporados en las formulaciones de gel tópico.....             | 36 |
| <b>Tabla 10</b> Caracterización físicoquímica de las formulaciones de gel tópico elaboradas con extracto polifenólico. .... | 37 |
| <b>Tabla 11</b> Actividad antioxidante de las formulaciones de gel tópico evaluadas mediante el método DPPH. ....           | 39 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|                                                                                                                                                   |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1</b> Partes de <i>Throbrooma cacao</i> L .....                                                                                         | 2  |
| <b>Figura 2</b> Estructura química de los polifenoles .....                                                                                       | 4  |
| <b>Figura 3</b> Mecanismo de acción de los antioxidantes .....                                                                                    | 5  |
| <b>Figura 4</b> Reacción Folin-Ciocalteu .....                                                                                                    | 8  |
| <b>Figura 5</b> Diagrama de Pareto de los efectos de las variables independiente .....                                                            | 30 |
| <b>Figura 6</b> Gráfica de efectos principales .....                                                                                              | 31 |
| <b>Figura 7</b> Formulaciones de gel tópico elaboradas con diferentes concentraciones de extracto polifenólico de cáscara de vaina de cacao ..... | 36 |

## ÍNDICE DE ANEXOS

|                |                                                                                                      |    |
|----------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Anexo A</b> | Selección de los frutos de Theobroma cacao L., proceso de secado y molienda ...                      | 50 |
| <b>Anexo B</b> | Curva de calibración del Ácido Gálico .....                                                          | 50 |
| <b>Anexo C</b> | Datos para la elaboración de la curva de calibración de Trolox .....                                 | 51 |
| <b>Anexo D</b> | Curva de calibración de Trolox .....                                                                 | 51 |
| <b>Anexo E</b> | Valores de la absorbancia correspondiente al extracto de polifenoles antes de la concentración ..... | 52 |
| <b>Anexo F</b> | Cálculo de las ecuaciones (3) y (4).....                                                             | 52 |
| <b>Anexo G</b> | Datos de pH obtenidos de las mediciones en el potenciómetro.....                                     | 53 |
| <b>Anexo H</b> | Fotografías de evidencia los diferentes pH obtenidos .....                                           | 53 |
| <b>Anexo I</b> | Viscosidad obtenida de las diferentes formulaciones del gel $cP = mPa \cdot s$ .....                 | 53 |
| <b>Anexo J</b> | Fotografías de evidencia de las medidas de la viscosidad .....                                       | 54 |
| <b>Anexo K</b> | Evidencia de la prueba de extensibilidad.....                                                        | 54 |

## RESUMEN EJECUTIVO

La cáscara de la vaina de *Theobroma cacao* L. es un residuo agroindustrial con contenido de compuestos fenólicos, los cuales poseen actividad antioxidante y pueden ser aprovechados en el desarrollo de productos para los sectores farmacéuticos y cosméticos. Su utilización contribuye además a la valorización de subproductos agrícolas y a la reducción del impacto ambiental. La extracción de compuestos fenólicos se realizó mediante baño ultrasónico utilizando un diseño factorial 2 al cubo, donde se evaluó la concentración de etanol al 50 y 70 por ciento, la relación sólido-líquido de 1 en 20 y 1 en 6 y temperaturas de 30 y 40 grados centígrados. Posteriormente, el extracto seleccionado fue concentrado e incorporado en formulaciones de gel tópico al 3, 5 y 7 por ciento, correspondientes a las formulaciones A, B y C. Los resultados mostraron que la mayor recuperación de polifenoles se obtuvo con etanol al 70 por ciento, relación sólido-líquido 1 en 20 y 30 grados centígrados, alcanzando 19,03 mg de ácido gálico por gramo de muestra seca. El extracto presentó una inhibición antioxidante de 71,28 por ciento y una capacidad antioxidante de 407,596 micro moles de Trolox por litro. Todas las formulaciones cumplieron con criterios fisicoquímicos y la formulación A fue seleccionada como la más óptima, debido a que no presentó diferencias significativas respecto a la formulación B, alcanzando un 54,028 por ciento de inhibición y 305,759 micro moles de Trolox por litro. Los resultados evidencian el potencial de la cáscara de cacao como fuente de compuestos bioactivos.

**Palabras clave:** cáscara de cacao, polifenoles, actividad antioxidante, gel tópico, extracción baño ultrasónico.

## ABSTRACT

The husk of the *Theobroma cacao* L. pod is an agro-industrial residue containing phenolic compounds, which possess antioxidant activity and can be used in the development of products for the pharmaceutical and cosmetic sectors. Its use also contributes to the valorization of agricultural byproducts and the reduction of environmental impact. The extraction of phenolic compounds was carried out using an ultrasonic bath with a 2 cubed factorial design, where ethanol concentrations of 50 and 70 percent, solid-liquid ratios of 1:20 and 1:6, and temperatures of 30 and 40 degrees Celsius were evaluated. Subsequently, the selected extract was concentrated and incorporated into topical gel formulations at 3, 5, and 7 percent, corresponding to formulations A, B, and C. The results showed that the highest polyphenol recovery was obtained with 70 percent ethanol, a solid-to-liquid ratio of 1, at 20 and 30 degrees Celsius, reaching 19.03 mg of gallic acid per gram of dry sample. The extract exhibited antioxidant inhibition of 71.28 percent and an antioxidant capacity of 407,596 micromoles of Trolox per liter. All formulations met physicochemical criteria, and formulation A was selected as the most optimal, as it showed no significant differences compared to formulation B, achieving 54.028 percent inhibition and 305,759 micromoles of Trolox per liter. These results demonstrate the potential of cocoa husk as a source of bioactive compounds.

**Keywords:** cocoa husk, polyphenols, antioxidant activity, topical gel, ultrasonic bath extraction.

## CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO

### 1.1. Antecedentes Investigativos

#### 1.1.1. *Justificación del problema*

Hoy en día, el envejecimiento cutáneo y el deterioro progresivo de la piel provocado por la acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS), generadas por estresores ambientales como la radiación ultravioleta (UV) y el metabolismo celular, constituyen un problema dermatológico creciente. Estos factores dañan lípidos, proteínas y ADN, generando pérdida de firmeza y el desarrollo de arrugas en la piel **(Hussen et al., 2025)**. Ante esta problemática, es necesario contrarrestar el estrés oxidativo mediante compuestos con actividad antioxidante, considerados esenciales en cosmecéuticos **(Budzianowska et al., 2025)**. Los geles tópicos se presentan como vehículos idóneos debido a su estabilidad, rápida absorción y capacidad para facilitar la liberación del principio activo sobre la piel **(Valentin et al., 2025)**. Entre los compuestos naturales con potencial antioxidante destacan los polifenoles, moléculas reconocidas por su capacidad para neutralizar radicales libres **(Sun et al., 2022)**.

Ecuador es reconocido como uno de los principales productores de cacao a nivel mundial **(Heredia-R et al., 2024)**. Sin embargo, el procesamiento del fruto de *Theobroma cacao* L se centra principalmente en el aprovechamiento de las semillas, mientras que la cáscara de la vaina que representa aproximadamente el 70–80 % del peso total del fruto, es descartada como residuo agroindustrial **(Vargas-Arana et al., 2022)**. Esta situación genera contaminación ambiental y desaprovechamiento de compuestos bioactivos. Estudios recientes reportan que la cáscara presenta un contenido promedio de polifenoles totales de  $5.64 \pm 1.39$  mg GAE/g y una actividad antioxidante del 84.34 %, evidenciando su potencial como fuente natural de antioxidantes **(Rahayu et al., 2023)**.

Por ello, el presente proyecto se orienta al diseño de una formulación tópica a base del extracto de polifenoles de la cáscara de la vaina de *Theobroma cacao* L., con el propósito de desarrollar un prototipo de gel con potencial efecto antioxidante. Esta investigación busca contribuir tanto a la protección de la piel frente al daño oxidativo como al aprovechamiento sostenible de un subproducto agroindustrial, promoviendo la generación de valor agregado dentro de la cadena productiva del cacao.

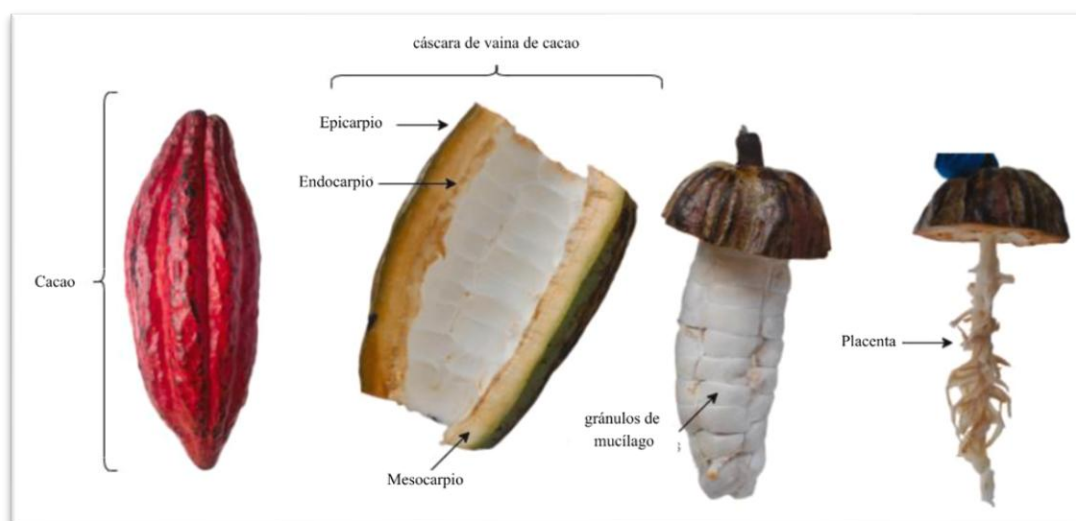
### 1.1.2 *Theobroma cacao* L. y características de la cáscara

#### 1.1.2.1 Generalidades del cacao

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es una especie perenne perteneciente a la familia Malvaceae, ampliamente cultivada en regiones tropicales debido a su alto valor económico, nutricional y funcional, lo que lo convierte en un cultivo de gran importancia a nivel mundial (Caicedo-Vargas et al., 2022). Este árbol es originario de la cuenca amazónica y produce frutos denominados mazorcas (Figura 1), los cuales están conformados por una cáscara externa y semillas recubiertas de mucílago que constituyen la materia prima esencial para la industria chocolatera (Jean-Marie et al., 2022).

**Figura 1**

*Partes de *Theobroma cacao* L*



*Nota:* Obtenida a partir de Meza-Sepulveda et al. (2024).

En el Ecuador, el cacao es reconocido por la calidad de sus variedades, especialmente el cacao fino de aroma, lo que ha permitido posicionar al país como uno de los principales exportadores a nivel internacional. La producción nacional ha alcanzado volúmenes significativos, en 2024 la producción nacional alcanzó aproximadamente 403 699 toneladas métricas, consolidándose como el segundo producto de exportación no petrolero y no minero del país (INEC, 2024).

#### 1.1.2.2 Cáscara de cacao como residuo agroindustrial

Durante el procesamiento del cacao se generan grandes cantidades de subproductos, siendo la cáscara de la mazorca uno de los residuos más abundantes, ya que representa entre el 70 % y el 80 % del peso seco del fruto. Este residuo suele ser descartado sin un tratamiento

adecuado, lo que provoca la acumulación de materia orgánica en descomposición y favorece la proliferación de microorganismos, generando impactos ambientales negativos (**Vargas-Arana et al., 2022**).

### **1.1.2.3 Composición química de la cáscara de cacao**

La cáscara de cacao presenta una composición química rica en compuestos de interés nutricional y funcional, destacándose su alto contenido de fibra dietética, tanto soluble como insoluble, incluyendo pectinas, celulosa y lignina, lo que le confiere propiedades estructurales importantes. También, contiene polisacáridos no amiláceos como hemicelulosas, los cuales contribuyen a sus características físico-químicas y funcionales en aplicaciones industriales (**Caicedo-Vargas et al., 2022**).

Además de su fracción estructural, la cáscara de cacao contiene diversos compuestos bioactivos de interés, entre los que destacan los polifenoles, responsables de su actividad antioxidante, así como metilxantinas como la teobromina y minerales esenciales. Estos compuestos contribuyen a sus propiedades funcionales y potencial aplicación en la industria alimentaria, farmacéutica y cosmética. La presencia de estos metabolitos secundarios refuerza el valor de este residuo agroindustrial como fuente de compuestos naturales con beneficios biológicos (**Quiceno-Suarez et al., 2024**).

### **1.1.3 Definición y clasificación de los polifenoles**

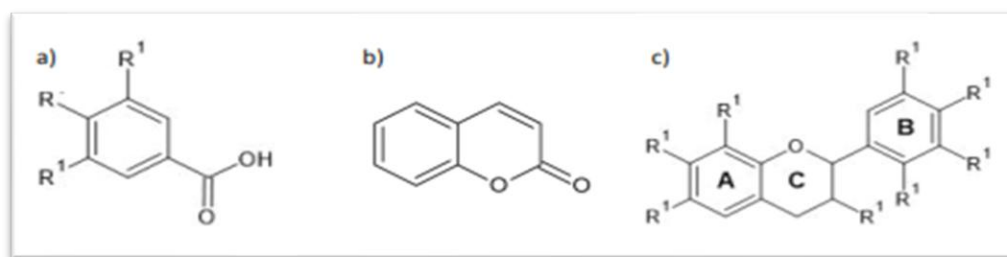
Los polifenoles son metabolitos secundarios de origen vegetal ampliamente distribuidos en frutas, vegetales, cereales, café y bebidas como el vino tinto. Se caracterizan por su diversidad estructural, lo que permite clasificarlos en diferentes grupos como flavonoides, ácidos fenólicos, lignanos, taninos y estilbenos. Esta clasificación se basa en la estructura química de sus compuestos, particularmente en el número y disposición de los anillos aromáticos y grupos hidroxilo, lo que influye directamente en sus propiedades biológicas (**Lang et al., 2024**).

#### **1.1.3.1 Estructura química de los polifenoles**

La estructura química de los polifenoles se basa en la presencia de uno o más anillos aromáticos unidos a grupos hidroxilo (-OH), los cuales son responsables de su capacidad antioxidante. Dependiendo de su complejidad estructural, estos compuestos pueden presentarse (Figura 2) como ácidos fenólicos simples, cumarinas o flavonoides, siendo estos últimos los más abundantes y estudiados. Los flavonoides presentan una estructura característica de tres anillos (a, b y c), lo que les confiere una alta capacidad de interacción con radicales libres (**Lang et al., 2024**).

## Figura 2

### Estructura química de los polifenoles



*Nota:* a). Ácidos Fenólicos, b). Cumarinas, c). Flavonoides; obtenida a partir de **Correales Guevara, (2022)**.

Como se observa en la **Figura 2**, los polifenoles presentan diferentes configuraciones estructurales, desde formas simples como los ácidos fenólicos hasta estructuras más complejas como los flavonoides. Estas variaciones influyen directamente en su estabilidad, solubilidad y actividad biológica, especialmente en su capacidad para actuar como antioxidantes.

#### 1.1.3.2 Polifenoles presentes en el cacao

La cáscara de cacao, considerada un subproducto del procesamiento de *Theobroma cacao*, ha sido identificada como una fuente importante de compuestos fenólicos, especialmente flavonoides y ácidos fenólicos. Aunque su contenido es menor en comparación con el grano, diversos estudios reportan que la cáscara aún conserva cantidades significativas de catequinas, epicatequinas y procianidinas, además de compuestos como ácido gálico y ácido procatecuico. Estos polifenoles contribuyen a su capacidad antioxidante, permitiendo neutralizar especies reactivas de oxígeno y posicionando a la cáscara como un material de interés para aplicaciones biotecnológicas y farmacéuticas (**Gomez et al., 2025**).

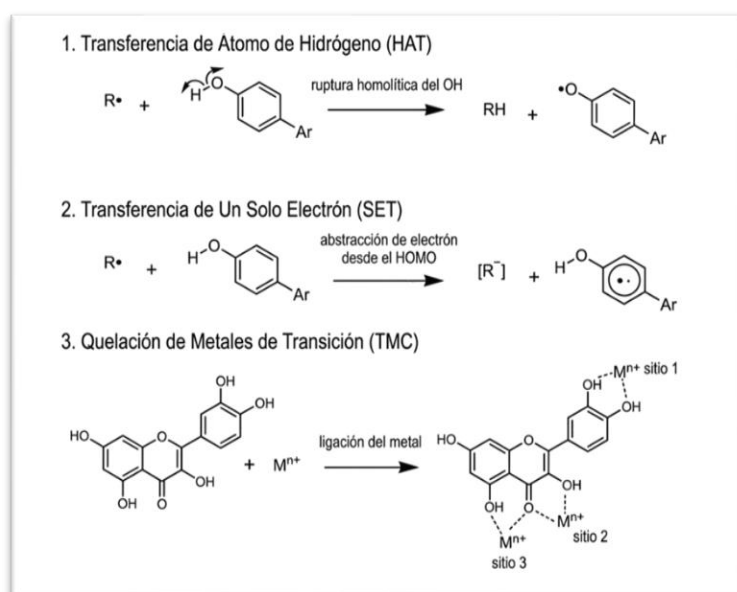
El contenido fenólico de la cáscara de cacao puede verse influenciado por factores como el proceso de fermentación, secado y tostado, los cuales pueden reducir o modificar la concentración y estructura de estos compuestos. A pesar de ello, se ha demostrado que este residuo agroindustrial mantiene una actividad antioxidante relevante, lo que ha impulsado su valorización en la obtención de extractos bioactivos. En este ámbito, la cáscara de cacao representa una alternativa sostenible para el aprovechamiento de subproductos, con potencial en el desarrollo de ingredientes funcionales y aplicaciones en la industria cosmética y alimentaria (**Gomez et al., 2025**).

### 1.1.3.3 Actividad antioxidante de los polifenoles

Los polifenoles son ampliamente reconocidos por su elevada capacidad antioxidante, la cual se fundamenta (**Figura 3**) en su habilidad para donar átomos de hidrógeno o electrones, actuando como agentes reductores frente a diversas especies reactivas de oxígeno, tales como el radical hidroxilo, el anión superóxido y el peróxido de hidrógeno. Esta propiedad se debe principalmente a la presencia de grupos hidroxilo en su estructura química, que permiten estabilizar radicales libres al formar compuestos menos reactivos, contribuyendo así a disminuir los procesos de oxidación en sistemas biológicos (**Correales Guevara, 2022**).

**Figura 3**

*Mecanismo de acción de los antioxidantes*



*Nota:* Obtenido de **Serra Bisbal et al. (2020)**.

Los polifenoles pueden actuar mediante diferentes mecanismos antioxidantes. Por un lado, donan electrones o átomos de hidrógeno a los radicales libres, estabilizándolos y evitando la propagación de reacciones en cadena. Por otro lado, presentan la capacidad de quelar metales de transición como el hierro y el cobre, los cuales favorecen la generación de especies reactivas. Esta doble acción fortalece su papel en la protección celular frente a los efectos del daño oxidativo (**Serra Bisbal et al., 2020**).

### 1.1.4 Métodos de extracción de polifenoles

La extracción de polifenoles es un proceso fundamental para la obtención de compuestos bioactivos a partir de matrices vegetales, el cual permite aislar sustancias con

potencial antioxidante y aplicaciones en la industria alimentaria, farmacéutica y cosmética. La eficiencia de este proceso depende tanto del método empleado como de las condiciones operativas utilizadas **(Silvia et al., 2025)**.

#### **1.1.4.1 Métodos convencionales y no convencionales**

Los métodos convencionales de extracción de compuestos fenólicos se basan principalmente en técnicas sólido-líquido como la maceración, Soxhlet o hidrodestilación, en las que se emplean disolventes orgánicos o mezclas con agua para solubilizar estos compuestos a partir de matrices vegetales. La eficiencia del proceso depende en gran medida de la polaridad del disolvente y de la estructura química de los fenoles, incluyendo su tamaño molecular y la presencia de grupos funcionales. Aunque estos métodos son ampliamente utilizados por su simplicidad, presentan desventajas como largos tiempos de extracción, alto consumo de disolventes y baja selectividad, lo que puede afectar la calidad del extracto obtenido **(Lama-Muñoz & Contreras, 2022)**.

En contraste, los métodos no convencionales han sido desarrollados para optimizar la extracción de polifenoles mediante el uso de tecnologías que mejoran la transferencia de masa y reducen las condiciones de operación. Entre estos destacan la extracción asistida por ultrasonido, microondas, fluidos supercríticos y líquidos presurizados, los cuales permiten obtener mayores rendimientos en menor tiempo y con menor uso de disolventes. Además, algunas técnicas emergentes incorporan enfoques más sostenibles, disminuyendo la degradación de los compuestos y mejorando la eficiencia del proceso, aunque en ciertos casos requieren equipos especializados que incrementan los costos de implementación **(Silvia et al., 2025)**.

#### **1.1.4.2 Factores que influyen en la extracción de polifenoles**

La eficiencia en la extracción de polifenoles está determinada por diversos factores que influyen directamente en la solubilidad, estabilidad y liberación de estos compuestos desde la matriz vegetal. Entre los más importantes se encuentran el tipo de disolvente, el pH del medio, la temperatura, el tiempo de extracción y la relación sólido-disolvente. La elección del disolvente es fundamental, ya que su polaridad debe ser compatible con la naturaleza de los compuestos fenólicos para maximizar su recuperación. También, condiciones ácidas suelen favorecer la estabilidad de los polifenoles al reducir su oxidación durante el proceso extractivo. La temperatura y el tiempo también juegan un papel clave, ya que valores elevados pueden incrementar el rendimiento, pero a su vez pueden provocar la degradación de compuestos termolábiles **(Silvia et al., 2025)**.

Por otro lado, las características de la muestra, como el tamaño de partícula y el tratamiento previo (secado, molienda o desengrasado), influyen significativamente en la eficiencia del proceso. Una reducción del tamaño de partícula aumenta el área de contacto con el disolvente, facilitando la difusión de los compuestos fenólicos. Además, la naturaleza química de los polifenoles, incluyendo su grado de polimerización y su forma (libres o ligados), así como su interacción con otros componentes de la matriz, también condicionan su extracción. En conjunto, la optimización de estos factores es esencial para mejorar el rendimiento y la calidad de los extractos obtenidos (**Lama-Muñoz & Contreras, 2022**).

#### **1.1.4.3 Extracción asistida por baño ultrasónico**

La extracción asistida por baño ultrasónico es una técnica no convencional ampliamente utilizada para la recuperación de compuestos fenólicos, la cual se basa en el fenómeno de cavitación acústica generado por ondas ultrasónicas de alta frecuencia. Este proceso produce la formación, crecimiento y colapso de microburbujas en el disolvente, lo que provoca la ruptura de las paredes celulares de la matriz vegetal y facilita la liberación de los compuestos fenólicos hacia el medio extractante. Como resultado, se mejora significativamente la transferencia de masa, incrementando el rendimiento de extracción en comparación con métodos convencionales. Además, esta técnica presenta ventajas como la reducción del tiempo de extracción, menor consumo de disolventes y operación a temperaturas relativamente bajas, lo que ayuda a preservar compuestos termolábiles. Sin embargo, factores como el tiempo, la temperatura, la potencia y la amplitud de sonicación deben ser controlados adecuadamente, ya que condiciones inadecuadas pueden favorecer reacciones secundarias que disminuyan la concentración de compuestos fenólicos (**Oroian et al., 2020**).

#### **1.1.5 Cuantificación de polifenoles**

La cuantificación de compuestos fenólicos es un paso fundamental en el análisis de extractos vegetales, ya que permite evaluar la eficiencia de los métodos de extracción y determinar la concentración de compuestos bioactivos presentes en la muestra. Debido a la complejidad estructural de los polifenoles y su distribución heterogénea en las matrices vegetales, es necesario emplear técnicas analíticas precisas que faciliten su identificación y cuantificación. En este contexto, las metodologías más utilizadas se agrupan principalmente en métodos espectrofotométricos y cromatográficos, los cuales permiten cuantificar estos compuestos con distintos niveles de especificidad y sensibilidad (**Silva et al., 2024**).

### 1.1.5.1 Métodos de determinación de polifenoles

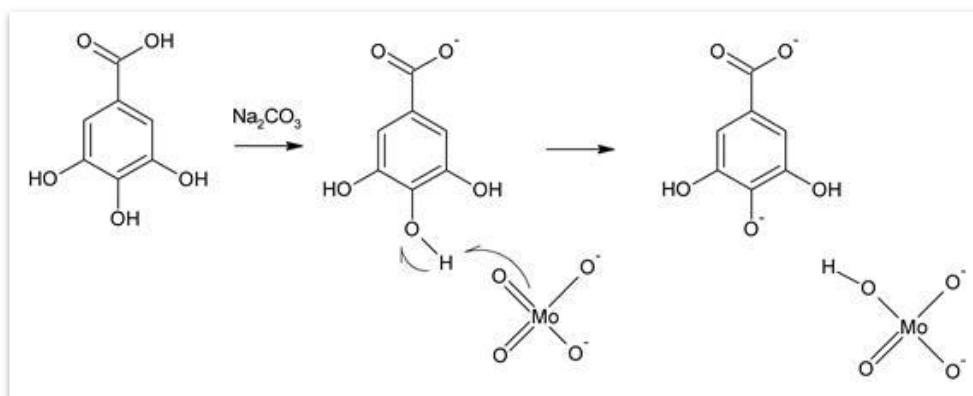
Los métodos espectrofotométricos, especialmente aquellos basados en espectroscopía UV-Vis, son ampliamente utilizados debido a su simplicidad, rapidez y bajo costo. Estas técnicas se fundamentan en la capacidad de los compuestos fenólicos para absorber radiación a determinadas longitudes de onda, generando una señal proporcional a su concentración, la cual se determina mediante curvas de calibración con estándares como ácido gálico o catequina. No obstante, presentan limitaciones relacionadas con su baja especificidad, ya que pueden reaccionar con otras sustancias presentes en la matriz. Por otro lado, los métodos cromatográficos, como la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) acoplada a detectores UV o espectrometría de masas, permiten una identificación más precisa de compuestos individuales, aunque requieren mayor tiempo, costo y consumo de solventes (Silva et al., 2024).

### 1.1.5.2 Método Folin-Ciocalteu

Según Muñoz-Bernal et al. (2017) el método de Folin-Ciocalteu se basa en una reacción de óxido-reducción en la que los compuestos fenólicos, como el ácido gálico, reaccionan con una mezcla de ácidos fosfomolibdico y fosfotúngstico en medio alcalino, generando especies reducidas de molibdeno y tungsteno. En estas condiciones, los fenoles se transforman en iones fenolato, los cuales son responsables de reducir el reactivo, dando lugar a la formación de complejos coloreados. Este mecanismo se ilustra en la **Figura 4**, donde se observa la reacción entre el ácido gálico y el reactivo de Folin-Ciocalteu.

**Figura 4**

*Reacción Folin-Ciocalteu*



*Nota:* Obtenido de Muñoz-Bernal et al. (2017).

Como resultado de esta reacción, se forma un complejo de molibdeno reducido ( $\text{Mo(V)}$ ) que produce una coloración azul intensa, cuya intensidad es proporcional a la concentración de

compuestos fenólicos presentes en la muestra. Esta coloración se cuantifica mediante espectrofotometría UV-Vis, generalmente a una longitud de onda cercana a 760–765 nm, permitiendo así determinar el contenido total de polifenoles. Sin embargo, es importante considerar que la intensidad de la señal puede verse afectada por factores como el pH, la temperatura de incubación y la presencia de compuestos interferentes, lo que puede influir en la precisión del análisis **(Muñoz-Bernal et al., 2017)**.

La respuesta del método Folin-Ciocalteu depende principalmente de la presencia de grupos hidroxilo fenólicos (-OH) en la estructura de los polifenoles, los cuales actúan como donadores de electrones en medio alcalino. De este mismo modo, la cantidad y posición de estos grupos funcionales influyen en la capacidad reductora de cada compuesto fenólico y, por tanto, en la intensidad de absorbancia registrada durante el análisis espectrofotométrico **(Pérez et al., 2023)**.

#### ***1.1.6 Determinación de la capacidad antioxidante***

La determinación de la capacidad antioxidante es fundamental para evaluar el potencial de compuestos bioactivos, especialmente aquellos presentes en extractos naturales ricos en polifenoles. Estos compuestos actúan como agentes reductores y neutralizadores de radicales libres, evitando procesos de oxidación que pueden afectar sistemas biológicos o matrices alimentarias. En este sentido, la actividad antioxidante se relaciona directamente con la capacidad de donar electrones o átomos de hidrógeno para estabilizar especies reactivas **(Munteanu & Apetrei, 2021)**.

A lo largo del tiempo, los métodos para medir esta capacidad han evolucionado considerablemente, pasando de sistemas simples enfocados en la oxidación lipídica a técnicas más específicas que permiten evaluar diferentes mecanismos antioxidantes. Como señalan **Christodoulou et al. (2022)**, actualmente existen múltiples enfoques que permiten cuantificar la actividad antioxidante mediante cambios medibles en propiedades como la absorbancia, facilitando su análisis en muestras de origen vegetal.

Además, es importante considerar que la actividad antioxidante no depende de un único mecanismo, sino de la interacción de diversos factores como la estructura química de los compuestos, su solubilidad y el medio en el que se encuentran. Por ello, **Munteanu & Apetrei (2021)**, destacan que los ensayos antioxidantes deben seleccionarse cuidadosamente, ya que cada método evalúa un aspecto específico del comportamiento antioxidante.

Por otra parte, este tipo de ensayo también presenta métodos biológicos o *in vivo* los cuales permiten evaluar la capacidad antioxidante considerando la respuesta integral de un

organismo frente al estrés oxidativo, proporcionando información más cercana a las condiciones fisiológicas reales. El nematodo *Caenorhabditis elegans* ha sido ampliamente utilizado como modelo experimental debido a su corto ciclo de vida, facilidad de cultivo y similitud de diversas rutas celulares con organismos superiores. Estos ensayos permiten analizar parámetros como la supervivencia, longevidad, resistencia al estrés oxidativo, acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y expresión de genes relacionados con mecanismos antioxidantes. Estudios recientes han demostrado que extractos vegetales ricos en polifenoles pueden incrementar la resistencia al estrés oxidativo y reducir la acumulación intracelular de ROS en *C. elegans*, evidenciando la activación de sistemas de defensa antioxidante asociados a genes como *sod-3*, *gst-4* y *skn-1* (Reyes-Flores et al., 2025).

Igualmente, existen otros ensayos químicos ampliamente utilizados para evaluar la actividad antioxidante. El método de quelación de metales determina la capacidad de los compuestos para unirse a iones metálicos como el hierro, evitando la generación de radicales libres. Por ello, el ensayo de  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico evalúa la inhibición de la oxidación lipídica mediante la protección del  $\beta$ -caroteno frente a su decoloración. Por otro lado, el método de reducción de fosfomolibdeno se basa en la formación de un complejo verde producto de la reducción de Mo(VI) a Mo(V), mientras que el ensayo ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) mide la capacidad de los antioxidantes para inhibir la oxidación inducida por radicales peroxilo a lo largo del tiempo (Munteanu & Apetrei, 2021).

En la actualidad, los métodos espectrofotométricos son los más utilizados debido a su rapidez, simplicidad y bajo costo. Entre los más empleados se encuentran ABTS, que mide la decoloración del radical  $\text{ABTS}^{+\bullet}$  en presencia de antioxidantes; FRAP, que evalúa la capacidad reductora mediante la conversión de  $\text{Fe}^{3+}$  a  $\text{Fe}^{2+}$ ; y CUPRAC, que determina la reducción de  $\text{Cu}^{2+}$  a  $\text{Cu}^{+}$  formando un complejo coloreado cuantificable. Dentro de este ámbito destaca ampliamente el método DPPH ya que se basa en la disminución de la absorbancia de un radical estable, siendo uno de los ensayos más utilizados para evaluar la actividad antioxidante en extractos vegetales (Christodoulou et al., 2022).

Entre los distintos métodos utilizados para determinar la capacidad antioxidante, el ensayo DPPH destaca por su alta sensibilidad, rapidez y facilidad de aplicación en extractos de origen vegetal. Este método permite evaluar la capacidad de los compuestos antioxidantes para neutralizar radicales libres mediante la reducción del radical estable DPPH, generando una disminución de la absorbancia proporcional a la actividad antioxidante de la muestra. Debido a su reproducibilidad y amplio uso en investigaciones relacionadas con compuestos fenólicos y productos naturales, el método DPPH se ha consolidado como una de las técnicas

espectrofotométricas más empleadas para la evaluación de la actividad antioxidante en estudios biotecnológicos y farmacológicos.

#### **1.1.6.1. Método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)**

El método DPPH es uno de los ensayos más utilizados para determinar la capacidad antioxidante de extractos naturales, especialmente aquellos ricos en compuestos fenólicos. Este método se basa en la reducción del radical libre estable DPPH• mediante la acción de antioxidantes, los cuales donan electrones o átomos de hidrógeno, provocando un cambio de color que puede ser medido espectrofotométricamente (**Christodoulou et al., 2022**).

El radical DPPH presenta una coloración violeta intensa, la cual disminuye progresivamente a medida que es neutralizado por los antioxidantes presentes en la muestra. Según **Munteanu & Apetrei (2021)**, esta decoloración es proporcional a la capacidad antioxidante del compuesto analizado, lo que permite cuantificar su actividad mediante la medición de la absorbancia.

Una de las principales ventajas de este método es que utiliza un radical estable, lo que evita la necesidad de generar especies reactivas durante el análisis, facilitando su aplicación en laboratorio. Además, diversos estudios han señalado que este ensayo es rápido, económico y reproducible, siendo adecuado para la evaluación comparativa de extractos vegetales con potencial antioxidante (**Christodoulou et al., 2022**).

### ***1.1.7 Piel y estrés oxidativo cutánea***

#### **1.1.7.1 Estructura de la piel**

La piel es el órgano más extenso del cuerpo humano y actúa como una barrera protectora frente a agentes externos, además de cumplir funciones esenciales como la regulación térmica, la protección inmunológica y la percepción sensorial. Estructuralmente, está conformada por tres capas principales: la epidermis, la dermis y la hipodermis. La epidermis es la capa más externa y está compuesta principalmente por queratinocitos, los cuales se organizan en diferentes estratos y participan en la formación de la barrera cutánea. Por debajo se encuentra la dermis, constituida por tejido conectivo rico en colágeno, elastina y fibroblastos, elementos responsables de la resistencia, elasticidad y firmeza de la piel. Finalmente, la hipodermis está formada principalmente por tejido adiposo, el cual cumple funciones de aislamiento térmico y amortiguación (**Rinnerthaler et al., 2015**).

La integridad de estas capas es fundamental para el correcto funcionamiento de la piel. Sin embargo, factores internos y externos pueden alterar su estructura, afectando su capacidad de protección y favoreciendo procesos de envejecimiento y daño celular.

#### **1.1.7.2 Estrés oxidativo en la piel**

El estrés oxidativo en la piel se produce como consecuencia del desequilibrio entre la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la capacidad del organismo para neutralizarlas. Estas especies incluyen radicales libres como el anión superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) y el radical hidroxilo ( $\bullet OH$ ) así como compuestos no radicalarios como el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), los cuales pueden acumularse en los tejidos cutáneos y provocar daño celular (Xu et al., 2024). En condiciones normales, las ROS participan en procesos de señalización celular; sin embargo, en concentraciones elevadas activan rutas como MAPK, NF- $\kappa$ B y AP-1, promoviendo la expresión de citocinas inflamatorias y metaloproteinasas de matriz (MMPs), responsables de la degradación de colágeno y elastina. Por ende, pueden inducir daño en el ADN y activar mecanismos de apoptosis celular, contribuyendo al deterioro progresivo de la piel (Wei et al., 2024).

Uno de los principales factores que incrementa la producción de ROS es la UV. La radiación UVA (315-400 nm) penetra profundamente en la dermis y favorece la oxidación de lípidos y proteínas, mientras que la UVB (280-315 nm) produce daño directo en el ADN. Estos efectos conducen a la pérdida de elasticidad, aparición de arrugas y procesos inflamatorios, característicos del fotoenvejecimiento cutáneo (Bernerd et al., 2022).

#### **1.1.7.3 Papel de los antioxidantes en la piel**

Los antioxidantes desempeñan un papel fundamental en la protección de la piel frente al daño oxidativo, ya que actúan neutralizando las especies reactivas de oxígeno y evitando la degradación de estructuras celulares esenciales. Estos compuestos pueden donar electrones o átomos de hidrógeno, estabilizando los radicales libres y reduciendo su capacidad de causar daño en lípidos, proteínas y ADN (Hussen et al., 2025). De modo que, en el ámbito dermatológico, los antioxidantes contribuyen a mantener la integridad de la matriz extracelular, protegiendo componentes como el colágeno y la elastina, lo que ayuda a preservar la firmeza y elasticidad de la piel. Debido a estas propiedades, su incorporación en formulaciones cosmeceúticas ha cobrado gran importancia como estrategia para prevenir el envejecimiento cutáneo y mejorar la salud de la piel (Budzianowska et al., 2025).

Además, los antioxidantes de origen natural, como los polifenoles, destacan por su alta eficacia biológica, lo que los convierte en candidatos ideales para el desarrollo de productos tópicos con actividad protectora frente al estrés oxidativo.

#### **1.1.7.4 Permeación cutánea y liberación de compuestos**

La permeación cutánea es el proceso mediante el cual una sustancia aplicada sobre la superficie de la piel atraviesa sus diferentes capas hasta alcanzar su sitio de acción. Este proceso

depende de múltiples factores, entre ellos las características fisicoquímicas del compuesto (peso molecular, solubilidad y polaridad), la integridad de la barrera cutánea y el tipo de formulación utilizada. La capa más importante en este proceso es el estrato córneo, que actúa como una barrera selectiva limitando la entrada de sustancias externas. Para lograr una adecuada permeación, los compuestos deben poseer características que les permitan atravesar esta capa sin comprometer la estabilidad de la formulación **(Chedik et al., 2024)**.

La permeación cutánea puede mejorarse mediante el uso de excipientes y agentes promotores de absorción incorporados en la formulación. Sustancias como el etanol, propilenglicol, terpenos, surfactantes y ciertos aceites esenciales actúan modificando temporalmente la estructura lipídica del estrato córneo, aumentando la solubilidad del compuesto activo y favoreciendo su difusión a través de la piel. Entre ellos, el propilenglicol y el etanol son ampliamente utilizados debido a su capacidad para incrementar la hidratación cutánea y mejorar la penetración de compuestos fenólicos y otros metabolitos bioactivos. Asimismo, algunos sistemas de liberación como liposomas, nanoemulsiones y ethosomas permiten optimizar la liberación controlada y la biodisponibilidad de los principios activos en formulaciones tópicas **(Hmingthansanga et al., 2022)**.

En este sentido, los sistemas tópicos como los geles representan una alternativa eficaz para la administración de compuestos bioactivos, ya que facilitan la liberación controlada del principio activo, mejoran su distribución sobre la piel y favorecen su absorción. Además, presentan ventajas como buena estabilidad, textura ligera y rápida penetración, lo que los convierte en vehículos adecuados para la aplicación de compuestos antioxidantes **(Valentin et al., 2025)**.

### ***1.1.8 Formulación de gel***

#### **1.1.8.1 Definición y características de los geles**

Los geles son sistemas semisólidos constituidos por redes tridimensionales formadas por partículas coloidales que retienen un líquido, el cual puede ser acuoso, no acuoso o hidroalcohólico. Esta estructura les confiere propiedades como la capacidad de extenderse fácilmente sobre superficies y un efecto refrescante asociado a su contenido de humedad. Además, los geles presentan una amplia versatilidad en aplicaciones tanto técnicas como médicas, siendo utilizados en productos de uso cotidiano como cosméticos y formulaciones farmacéuticas **(Wang et al., 2025)**.

Desde el punto de vista estructural, los geles se clasifican principalmente en hidrogeles y organogeles, dependiendo del tipo de líquido que se encuentra inmovilizado dentro de su red

tridimensional. Los hidrogeles tienen la capacidad de absorber grandes cantidades de agua o fluidos biológicos, mientras que los organogeles presentan menor hidratación y utilizan solventes orgánicos (**Wang et al., 2025**). Estas características influyen directamente en sus aplicaciones y funcionalidad.

#### **1.1.8.2. Componentes de un gel**

Los geles están constituidos por una combinación de componentes que permiten la formación de una estructura semisólida estable y funcional. En este sentido, **Singh et al. (2025)**, describen que estos sistemas se elaboran a partir de una fase líquida que es inmovilizada mediante una red de polímeros, lo que confiere al gel su consistencia característica. Dentro de esta formulación, el agente gelificante representa el componente fundamental, ya que es responsable de generar la estructura tridimensional que retiene el líquido.

De acuerdo a esta investigación, los agentes gelificantes pueden ser de origen natural, como la pectina o el agar; semisintético, como la carboximetilcelulosa; o sintético como los carbómeros, cada uno con propiedades específicas que influyen en la viscosidad y estabilidad del sistema. Además, la formulación de geles incluye excipientes como conservantes antimicrobianos, antioxidantes y estabilizantes, los cuales cumplen funciones esenciales para mantener la integridad del producto y evitar su degradación a lo largo del tiempo.

En formulaciones que incorporan extractos naturales, los principios activos se dispersan dentro de la matriz del gel, permitiendo su liberación. Tal como indican **Singh et al., (2025)**, esta característica resulta especialmente relevante en sistemas de administración tópica, donde se busca maximizar el efecto local del compuesto activo y minimizar su absorción sistémica, mejorando así la seguridad y eficacia del producto.

#### **1.1.8.3. Propiedades fisicoquímicas de geles con extractos naturales**

Las propiedades fisicoquímicas de los geles son determinantes para su estabilidad, eficacia y seguridad, especialmente cuando se incorporan extractos naturales ricos en compuestos bioactivos como los polifenoles. Estas propiedades influyen directamente en el comportamiento del sistema durante su aplicación y en la liberación de los principios activos, lo que condiciona su funcionalidad en aplicaciones farmacéuticas y cosméticas (**Singh et al., 2025**).

Entre los parámetros más importantes para la caracterización de geles tópicos se encuentran la apariencia, homogeneidad, pH, viscosidad y extensibilidad. La evaluación de estas propiedades permite verificar la calidad física del producto y detectar posibles alteraciones durante el almacenamiento. De acuerdo con la norma **International Organization for Standardization (2018)**, estos parámetros forman parte de las características que deben ser

monitoreadas en estudios de estabilidad de productos cosméticos, ya que permiten evidenciar cambios físicos o fisicoquímicos que podrían comprometer la funcionalidad y aceptación del producto.

El pH constituye un parámetro clave en la evaluación de geles, ya que afecta tanto la estabilidad del sistema como su interacción con la piel. En este sentido, **Wang et al. (2025)** señalan que este factor debe encontrarse en un rango de 5,5 y 6,0 esto se justifica debido a que estos se encuentran próximos al pH fisiológico de la piel 4,5–7,0 favoreciendo una aplicación segura y minimizando el riesgo de irritación cutánea y también interviene en procesos como la liberación de compuestos activos y en las transformaciones estructurales del gel, lo que repercute en su desempeño final.

La viscosidad es otra propiedad fundamental debido a que influye en la capacidad de extensión, adhesión y permanencia del gel sobre la superficie cutánea. Este parámetro también condiciona la liberación y difusión de los compuestos activos desde la matriz polimérica. Su determinación se realiza comúnmente mediante viscosímetros rotacionales siguiendo los procedimientos descritos en la Farmacopea de los Estados Unidos (**United States Pharmacopeia, 2018**) para la evaluación reológica de sistemas semisólidos. Para geles elaborados con carbómeros de grado NF, se reportan especificaciones generales de viscosidad comprendidas entre 10 000 y 35 000 cP, valores que garantizan una consistencia adecuada para la aplicación tópica y una correcta estabilidad física de la formulación.

Por otra parte, la apariencia, homogeneidad y extensibilidad permiten evaluar la calidad física y la aceptabilidad de la formulación. La apariencia y homogeneidad reflejan una adecuada formación de la red tridimensional del gel, evidenciando la ausencia de separación de fases, precipitados o grumos visibles. La extensibilidad, por su parte, proporciona información sobre la facilidad de distribución del producto sobre la piel y se relaciona directamente con las propiedades reológicas del sistema. La interacción entre el agente gelificante y los compuestos bioactivos también influye en estas características, condicionando la estructura del gel y su capacidad para mantener la estabilidad de los antioxidantes presentes en extractos naturales (**Singh et al., 2025**).

## **1.2.Objetivos**

### ***1.2.1. Objetivo general***

Formular un gel a base de extracto de polifenoles obtenidos de la cáscara de *Theobroma cacao* L., con actividad antioxidante.

### ***1.2.2. Objetivos Específicos***

- Extraer polifenoles a partir de la cáscara de la vaina de *Theobroma cacao* L.
- Determinar la actividad antioxidante del extracto de polifenoles.
- Elaborar un gel tópico a base del extracto de polifenoles.

## CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA

### 2.1. Materiales

El presente trabajo de titulación tuvo un enfoque experimental y se desarrolló en el laboratorio de investigación UDIDE, perteneciente a la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato. En la **Tabla 1** se detallan los equipos, materiales y reactivos empleados a lo largo de todo el proceso experimental.

**Tabla 1**

*Materiales y reactivos empleados en el proyecto de investigación*

| Reactivos                        | Cantidad |
|----------------------------------|----------|
| Etanol 96%                       | 3 L      |
| Metanol 80%                      | 100 mL   |
| Folin-Ciocalteu                  | 10 mL    |
| Agua destilada                   | 5 L      |
| Carbonato de sodio               | 2 g      |
| Ácido gálico                     | 0.05 g   |
| Trolox                           | 6.45 mg  |
| DPPH                             | 5.9 mg   |
| Carbopol 940                     | 3 g      |
| Glicerina                        | 12 mL    |
| Propilenglicol                   | 30 mL    |
| Metilparabeno                    | 0.3 g    |
| Trietanolamina                   | 4.5 mL   |
| Material de Laboratorio          | Unidades |
| Cuchillo de acero inoxidable     | 1        |
| Papel filtro                     | 5        |
| Papel aluminio                   | 1        |
| Botella de vidrio ámbar (100 cc) | 24       |
| Papel absorbente                 | 1        |
| Placa de 96 pocillos             | 4        |
| Probeta graduada (100 mL, 10 mL) | 1        |
| Erlenmeyer (250 mL)              | 6        |
| Embudos de vidrio                | 4        |

| Pipetas graduadas (5 mL, 10 mL)                   | 1               |
|---------------------------------------------------|-----------------|
| Vasos de precipitación (50 mL, 250 mL)            | 5               |
| Micropipeta (20 uL-200 uL, 100 uL-1000 uL)        | 1               |
| Balón de evaporación (1L)                         | 1               |
| Pera de succión                                   | 1               |
| Varilla de agitación                              | 1               |
| Cajas de puntas de micropipetas (200 uL, 1000 uL) | 1               |
| Envases para gel                                  | 9               |
| Placa Petri                                       | 9               |
| Pipeta pasteur                                    |                 |
| Balón de aforo (10 mL, 50 mL, 100 mL)             | 3               |
| <b>Materia prima</b>                              | <b>Cantidad</b> |
| Cáscara de la vaina de cacao                      | 300 g           |
| <b>Equipos</b>                                    | <b>Tiempo</b>   |
| Estufa                                            | 48 horas        |
| Licuadaora                                        | 20 min          |
| Rotavapor                                         | 1 horas         |
| Espectrofotómetro UV-VIS Fisher                   | 20 min          |
| Balanza de humedad                                | 30 min          |
| Balanza analítica                                 | 1 horas         |
| Plancha de agitación                              | 5 horas         |
| Baño ultrasónico                                  | 8 horas         |

*Nota.* Elaboración propia

## 2.2. Métodos

La presente investigación fue de tipo aplicada, debido a que buscó aprovechar un residuo agroindustrial, como es la cáscara de la vaina de *Theobroma cacao L.*, para la obtención de compuestos bioactivos con potencial antioxidante. El estudio tuvo como finalidad extraer polifenoles, evaluar su actividad antioxidante y posteriormente incorporarlos en la formulación de un gel tópico con posibles beneficios funcionales. En este sentido, la investigación presentó un enfoque cuantitativo, ya que se midieron variables como el contenido de compuestos fenólicos y el porcentaje de inhibición de radicales libres. Para ello, se emplearon técnicas de

laboratorio y análisis estadísticos que permitieron validar la eficacia del proceso y de la formulación obtenida.

### **2.2.1 Extracción polifenoles a partir de la cáscara de la vaina de *Theobroma cacao* L.**

Las cáscaras de *Theobroma cacao* L. fueron recolectadas en el cantón La Maná, provincia de Cotopaxi, a partir de frutos de la variedad CCN 51, los cuales constituyen residuos agroindustriales comúnmente desechados en las fincas del sector.

#### **2.2.1.1 Selección, limpieza y preparación de la materia prima**

Los frutos se seleccionaron bajo criterios de calidad fitosanitaria, descartando aquellos con presencia de hongos, daños mecánicos o signos de deterioro. Posteriormente, las muestras fueron sometidas a una limpieza primaria con agua corriente para eliminar restos de tierra e impurezas. A continuación, se realizó una limpieza secundaria con agua destilada para asegurar la remoción de contaminantes superficiales. Finalmente, las cáscaras fueron cortadas en fragmentos de tamaño uniforme, con el fin de facilitar los procesos posteriores de secado y molienda.

#### **2.2.1.2 Secado y molienda del material vegetal**

Los fragmentos obtenidos se distribuyeron en bandejas de acero inoxidable y se sometieron a secado en estufa a temperaturas entre 40 y 50 °C durante 8–12 horas (**Anexo A**), hasta alcanzar peso constante, con el fin de minimizar la humedad residual. Posteriormente, el material seco fue triturado mediante mortero y luego paso por una lic hasta obtener un polvo fino y homogéneo, garantizando una granulometría adecuada que favoreció el contacto sólido-disolvente durante la extracción (**Ramos-Escudero et al., 2023**).

#### **2.2.1.3 Proceso de extracción asistida por ultrasonido**

El proceso de extracción se basó en las metodologías reportadas por **Ramos-Escudero et al. (2023)** y **Rahayu et al. (2023)**, las cuales fueron adaptadas a las características fisicoquímicas de la matriz vegetal y a las condiciones operativas del laboratorio. Se empleó extracción asistida por ultrasonido debido a su eficiencia en la liberación de compuestos fenólicos mediante fenómenos de cavitación acústica.

La extracción se realizó con un volumen final de 100 mL, utilizando relaciones sólido:líquido de 1:6 y 1:20 (p/v). Como disolvente se emplearon mezclas hidroalcohólicas de etanol al 50 % y 70 % (v/v). Estas mezclas se seleccionaron debido a que el agua incrementa la polaridad del medio y favorece la formación de puentes de hidrógeno con los grupos hidroxilo de los compuestos fenólicos, mientras que el etanol reduce la polaridad global, facilitando la solubilización de compuestos menos polares. Adicionalmente, el etanol es un

disolvente seguro y compatible con aplicaciones cosméticas, lo que respalda su uso en este tipo de procesos.

Una vez pesado el material vegetal, este fue colocado directamente en matraces Erlenmeyer de 100 mL, donde se añadió el volumen correspondiente de disolvente según cada tratamiento experimental. Posteriormente, las mezclas fueron sometidas a agitación magnética durante 30 minutos para asegurar una adecuada humectación del material vegetal. A continuación, los matraces se sometieron a un baño ultrasónico a 40 kHz durante 30 minutos, evaluando temperaturas entre 30 y 40 °C. Estas condiciones favorecieron la disrupción celular y la liberación de metabolitos de interés.

Finalizado el proceso, los extractos fueron filtrados mediante papel de filtro para eliminar residuos sólidos y obtener soluciones homogéneas. Los filtrados se almacenaron en frascos ámbar, protegidos de la luz y se utilizaron inmediatamente en las etapas posteriores de análisis.

#### **2.2.1.4 Cuantificación del contenido total de polifenoles**

El contenido total de polifenoles se determinó mediante el método de Folin–Ciocalteu en microplaca, siguiendo la metodología descrita por **Bobo-García et al. (2015)** con adaptaciones. Se tomaron 20 µL de cada extracto previamente diluidos en proporciones 1:20 y 1:40 y se colocaron en una microplaca de 96 pocillos. Posteriormente, se añadieron 100 µL del reactivo Folin–Ciocalteu diluido 1:4 (v/v) y se agitó durante 60 segundos. La mezcla se dejó reposar 240 segundos.

A continuación, se agregaron 75 µL de una solución de carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) y se agitó nuevamente durante 1 minuto. La placa se incubó a temperatura ambiente, protegida de la luz, durante 2 horas para el desarrollo de la reacción. La absorbancia se midió a 750 nm utilizando un lector de microplacas.

La curva de calibración se elaboró empleando ácido gálico ( $10\text{--}200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) bajo las mismas condiciones experimentales. Los datos obtenidos se ajustaron mediante regresión lineal, aceptando valores con  $R^2 \geq 0,99$ . La concentración de polifenoles se calculó por interpolación en la curva de calibración y se expresó como mg equivalentes de ácido gálico por litro ( $\text{mg GAE} \cdot \text{L}^{-1}$ ). Posteriormente, este valor se utilizó para determinar la masa total de polifenoles recuperados.

El contenido total polifenólico (CTP) se expresó como mg equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra seca ( $\text{mg GAE/g}$ ), para lo cual se empleó la **ecuación (1)**, permitiendo evaluar la eficiencia de la extracción y comparar los diferentes tratamientos experimentales.

Este parámetro se utilizó como variable de respuesta en el diseño experimental descrito en la sección 2.2.1.5.

$$CTP = \frac{(mg \text{ GAE})}{(g \text{ de muestra})} \quad (1)$$

### 2.2.1.5 Diseño experimental del proceso de extracción

Para optimizar el proceso de extracción asistida por ultrasonido, se aplicó un diseño factorial completo  $2^3$ , el cual permitió estudiar simultáneamente la influencia individual y combinada de tres factores experimentales clave. Este tipo de diseño se seleccionó debido a que ofrece una evaluación eficiente de los efectos principales y de las interacciones entre los factores, utilizando un número reducido de experimentos y manteniendo un alto nivel de validez estadística. En este estudio, los factores independientes fueron:

- A — Concentración de etanol (nivel bajo 50 % v/v, nivel alto 70 % v/v)
- B — Relación sólido:líquido (S/L) (nivel bajo 1:20, nivel alto 1:6)
- C — Temperatura del baño (nivel bajo 30 °C, nivel alto 40 °C)

En la **Tabla 2** se mostró el plan factorial correspondiente al diseño experimental  $2^3$ , donde se detallaron las combinaciones de niveles bajo y alto de los factores estudiados: concentración de etanol (A), relación S/L (B) y temperatura del baño ultrasónico (C). Este corrido experimental permitió visualizar de manera ordenada cada tratamiento propuesto, facilitando el análisis sistemático de los efectos principales y de las posibles interacciones entre los factores sobre la eficiencia del proceso de extracción asistida por ultrasonido.

**Tabla 2**

*Propuesta de diseño experimental  $2^3$  en base al disolvente, relación y temperatura.*

| Corrida | A<br>(Disolvente) | B<br>(Relación S/L) | C<br>(Temp.) | A (v/v) | B (p/v) | C (°C) |
|---------|-------------------|---------------------|--------------|---------|---------|--------|
| 1       | -1                | -1                  | -1           | 50%     | 1:20    | 30     |
| 2       | +1                | -1                  | -1           | 70%     | 1:20    | 30     |
| 3       | -1                | +1                  | -1           | 50%     | 1:6     | 30     |
| 4       | +1                | +1                  | -1           | 70%     | 1:6     | 30     |
| 5       | -1                | -1                  | +1           | 50%     | 1:20    | 40     |
| 6       | +1                | -1                  | +1           | 70%     | 1:20    | 40     |
| 7       | -1                | +1                  | +1           | 50%     | 1:6     | 40     |
| 8       | +1                | +1                  | +1           | 70%     | 1:6     | 40     |

*Nota.* Elaboración propia

La combinación de los niveles establecidos para cada factor generó ocho tratamientos experimentales. Cada uno de los tratamientos se realizó por triplicado ( $n = 3$ ) con el fin de asegurar la confiabilidad de los resultados y reducir la variabilidad experimental.

#### **2.2.1.6 Análisis estadístico**

El procesamiento estadístico de los datos se llevó a cabo utilizando el programa Statgraphics Centurion 19 (versión de prueba), empleando el análisis de varianza (ANOVA) correspondiente al diseño factorial  $2^3$ . Para la interpretación de los resultados se adoptó un nivel de confianza del 95 %, por lo que valores de  $p$  inferiores a 0,05 indicaron que un factor o interacción ejerció un efecto significativo sobre la eficiencia de extracción. Este procedimiento permitió identificar de manera precisa cuáles variables del proceso contribuyeron de forma relevante a las variaciones observadas en la respuesta, facilitando la comprensión del comportamiento del sistema bajo las distintas combinaciones de condiciones experimentales y determinando los factores que influyeron significativamente sobre la variable de respuesta seleccionada, el contenido total de polifenoles.

### **2.2.2 Determinación de la actividad antioxidante del extracto de polifenoles**

La actividad antioxidante del extracto obtenido a partir del diseño experimental fue evaluada mediante el método del radical DPPH.

#### **2.2.2.1 Ensayo DPPH**

El ensayo se realizó en microplaca siguiendo las condiciones propuestas por **Bobo-García et al. (2015)**. En cada pocillo se añadieron 20  $\mu\text{L}$  de la muestra (previamente diluida cuando fue necesario) y 180  $\mu\text{L}$  de una solución de DPPH a  $150 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  preparada en una mezcla metanol-agua (80:20, v/v). La microplaca fue agitada durante 60 segundos y la reacción se mantuvo durante 40 minutos en oscuridad a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo, se registró la absorbancia a 515 nm empleando un lector de microplacas.

#### **2.2.2.2 Elaboración de la curva estándar de Trolox**

Se construyó una curva estándar utilizando Trolox en el rango de 50–500  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , siguiendo la misma metodología del ensayo DPPH. Para ello, se reemplazaron los 20  $\mu\text{L}$  de muestra por 20  $\mu\text{L}$  de Trolox en sus diferentes concentraciones. Posteriormente, empleando la ecuación 2, se calculó el porcentaje de DPPH neutralizado.

$$\% \text{ Inhibición DPPH } (\%I) = \left[ 1 - \frac{(A_{\text{muestra}} - A_{\text{blanco}})}{(A_{\text{control}} - A_{\text{blanco}})} \right] * 100 \quad (2)$$

En esta expresión,  $A_{\text{muestra}}$  corresponde a la absorbancia de la muestra o estándar;  $A_{\text{control}}$  es la absorbancia de 20  $\mu\text{L}$  de agua con 180  $\mu\text{L}$  de solución de DPPH; y  $A_{\text{blanco}}$  es la absorbancia de 20  $\mu\text{L}$  de agua con 180  $\mu\text{L}$  de metanol–agua (80:20). Los resultados se expresaron como  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  de equivalentes de Trolox a partir de la curva de calibración.

### 2.2.3 Elaborar un gel tópico a base del extracto de polifenoles.

En esta etapa se formuló un gel tópico a partir del extracto polifenólico, cuya actividad antioxidante fue previamente determinada. El objetivo principal fue incorporarlo de forma homogénea en la base gelificada y ajustar las condiciones de formulación para obtener un producto físicamente estable, con pH, viscosidad y textura adecuados, de modo que se conservara y se aprovechara al máximo su actividad antioxidante en la aplicación sobre la piel.

#### 2.2.3.1 Proceso de concentración del extracto mediante rotavapor

El extracto hidroalcohólico de polifenoles, con un volumen aproximado de 200 mL, se concentró en un rotavapor. Se utilizó un matraz de evaporación de 1 L, de modo que el líquido ocupó solo una parte del volumen disponible, permitiendo la formación de una película delgada sobre las paredes, lo cual mejoró la transferencia de calor y disminuyó el riesgo de sobrellenado o arrastre de muestra. De acuerdo con las condiciones descritas por **Kulikova et al. (2023)**, el matraz de evaporación se colocó con un ángulo de inclinación de  $25^\circ$  y se fijó una velocidad de rotación de 280 rpm; la temperatura del baño se ajustó entre  $60 - 65^\circ\text{C}$  y la del refrigerante del condensador entre  $10 - 20^\circ\text{C}$ , trabajando bajo vacío suave para favorecer una ebullición controlada.

El proceso se mantuvo hasta observar una reducción notable del volumen y un aumento de la concentración del extracto. Una vez finalizado el proceso de concentración, se estimó el contenido de compuestos fenólicos presente en el extracto concentrado a partir de la cantidad total de polifenoles obtenida en el tratamiento óptimo de extracción. Para ello, se asumió que los compuestos fenólicos permanecieron estables durante la etapa de concentración y que la reducción de volumen se debió principalmente a la eliminación del solvente. La masa total de polifenoles presentes en el extracto se calculó mediante la **ecuación (3)**.

$$M_{\text{polifenoles}}(\text{mg GAE}) = C_{\text{inicial}} \left( \text{mg} \frac{\text{GAE}}{\text{mL}} \right) * V_{\text{inicial}}(\text{mL}) \quad (3)$$

Donde:

- $M_{\text{polifenoles}}$  = masa total de polifenoles (mg GAE)
- $C_{\text{inicial}}$  = concentración de polifenoles del tratamiento óptimo (mg GAE/mL)
- $V_{\text{inicial}}$  = volumen inicial del extracto antes de la concentración (mL)

Posteriormente, el contenido de polifenoles del extracto concentrado se estimó mediante la **ecuación (4)**:

$$C_{ext} = \frac{M_{polifenoles}}{m_{ext}} \quad (4)$$

Donde:

- $C_{ext}$  = contenido de polifenoles en el extracto concentrado (mg GAE/g)
- $M_{polifenoles}$  = masa total de polifenoles presentes en el extracto (mg GAE)
- $m_{ext}$  = masa final del extracto concentrado (g)

Este cálculo permitió conocer la cantidad efectiva de polifenoles disponibles en el extracto concentrado, garantizando una incorporación controlada y reproducible del principio activo en las distintas formulaciones del gel.

### 2.2.3.2 Desarrollo del gel con incorporación del extracto de polifenoles

La formulación del gel se llevó a cabo combinando la metodología ejecutada por **Kassymova & Zhusupova (2024)** y **Krongrawa et al. (2018)**, con tres formulaciones experimentales presentadas en la **Tabla 3** que difirieron únicamente en la concentración del extracto polifenólico obtenido de la cáscara de la vaina del cacao. Estas variaciones permitieron evaluar el efecto de diferentes porcentajes del principio activo sobre la actividad biológica del gel.

**Tabla 3**

*Formulaciones propuestas de gel tópico con extracto de polifenoles.*

| Componente            | Función principal                                  | Fórmula A<br>(% m/m) | Fórmula B<br>(% m/m) | Fórmula C<br>(% m/m) |
|-----------------------|----------------------------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| Extracto polifenólico | Activo antioxidante / fuente de polifenoles        | 3,0                  | 5,0                  | 7,0                  |
| Carbopol 940          | Gelificante hidrofílico                            | 1,0                  | 1,0                  | 1,0                  |
| Glicerina             | Humectante / emoliente                             | 4,00                 | 4,00                 | 4,00                 |
| Propilenglicol        | Cosolvente, humectante, potenciador de penetración | 10,0                 | 10,0                 | 10,0                 |
| Etanol 96 %<br>(v/v)  | Cosolvente para el extracto, co-penetrante         | 9,50 (10 mL/100 g)   | 9,50 (10 mL/100 g)   | 9,50 (10 mL/100 g)   |

|                      |                                            |              |              |              |
|----------------------|--------------------------------------------|--------------|--------------|--------------|
| Metilparabeno        | Conservante antimicrobiano                 | 0,10         | 0,10         | 0,10         |
| Trietanolamina (TEA) | Neutralizante del carbómero y ajuste de pH | 1,50         | 1,50         | 1,50         |
| Agua purificada      | Vehículo acuoso                            | c.s.p. 100 g | c.s.p. 100 g | c.s.p. 100 g |

La selección del carbopol 940 como agente gelificante se justificó por su amplia utilización en formulaciones tópicas, su capacidad para formar geles transparentes y estables y su compatibilidad con sistemas hidroalcohólicos. De igual manera, el propilenglicol y el etanol se emplearon como cosolventes y potenciadores de la penetración cutánea del extracto de polifenoles, mientras que el metilparabeno actuó como conservante y la trietanolamina se utilizó para neutralizar el carbopol 940 y ajustar el pH a valores compatibles con la piel, aproximadamente entre 5,5–5,8 (Krongrawa et al., 2018).

#### ***2.2.3.2.1 Preparación y pesado de los compuestos***

Se prepararon tres formulaciones de gel A, B y C, con la misma composición de excipientes y distinto porcentaje de extracto polifenólico (3, 5 y 7 % m/m, respectivamente). Para cada formulación se elaboró un lote de 30 g.

En primer lugar, se pesaron por separado todos los componentes de la formulación, de acuerdo con los porcentajes establecidos en la **Tabla 3** de composición: extracto polifenólico, carbopol 940, glicerina, propilenglicol, metilparabeno, trietanolamina (TEA), etanol al 96 % (v/v) y agua purificada. Se verificó que todo el material de vidrio y los utensilios estuvieran limpios y secos antes de iniciar el proceso, para evitar contaminación o variaciones en el peso de los componentes.

#### ***2.2.3.2.2 Preparación de la fase acuosa y dispersión del carbopol 940***

Para la preparación de esta fase, se colocó en un vaso de precipitación la cantidad correspondiente de agua purificada y se añadió la glicerina, mezclando hasta obtener una solución homogénea. Posteriormente, se incorporó la solución de metilparabeno previamente disuelta en propilenglicol mediante calentamiento suave en baño María, manteniendo la temperatura alrededor de  $50 \pm 5$  °C hasta lograr su completa solubilización, de modo que el conservante quedara uniformemente distribuido. Sobre esta mezcla se espolvoreó el carbopol 940 mientras se agitaba de forma constante, permitiendo que el polímero se dispersara completamente. La dispersión se dejó reposar toda la noche a 4 °C para que el carbopol se hidratara y se formara una matriz coloidal uniforme.

#### ***2.2.3.2.3 Preparación de la fase hidroalcohólica con el extracto***

En paralelo, se preparó la fase hidroalcohólica que contenía el extracto polifenólico. Para cada formulación se pesó la cantidad correspondiente de extracto (3, 5 o 7,5 g) y se colocó en un vaso limpio. Sobre este se añadió el volumen de etanol al 96 % previsto en la formulación de la **Tabla 3**. La mezcla se agitó hasta lograr la disolución o dispersión homogénea del extracto en el etanol, empleando agitación magnética o manual y protegiendo la preparación de la luz y de la evaporación excesiva del disolvente.

#### ***2.2.3.2.4 Neutralización del carbopol 940 y formación del gel base.***

Una vez hidratado el carbopol en la fase acuosa humectante, se procedió a la neutralización añadiendo trietanolamina de forma gradual, bajo agitación suave. La incorporación de la TEA aumentó el pH del sistema y provocó la transición de una dispersión fluida a un gel de mayor viscosidad. Durante este proceso se controló el pH con un potenciómetro y se ajustó la cantidad de trietanolamina hasta situarlo aproximadamente entre 5,5 y 6,0, rango adecuado para la aplicación tópica.

#### ***2.2.3.2.5 Incorporación de la fase hidroalcohólica y ajuste de peso.***

Cuando la base gel estuvo formada y neutralizada, se incorporó lentamente la fase hidroalcohólica que contenía el extracto polifenólico, manteniendo una agitación constante pero suave para evitar la formación de burbujas de aire. Se mezcló hasta obtener un gel de color uniforme y sin grumos. Posteriormente, se verificó el peso total del preparado y, si fue necesario, se añadió agua purificada para completar los 100 g, homogeneizando nuevamente el sistema. Se revisó la apariencia y se confirmó que el pH permaneciera dentro del rango establecido.

#### ***2.2.3.2.6 Envasado, rotulado y almacenamiento***

Finalmente, el gel se envasó en recipientes limpios, preferentemente opacos o de color ámbar, que se cerraron herméticamente. Cada envase se rotuló con el código de formulación (A, B o C), el contenido y la fecha de elaboración. Los productos se almacenaron en condiciones controladas de temperatura hasta la realización de los estudios de caracterización fisicoquímica, actividad antioxidante y calidad microbiológica.

#### ***2.2.3.3 Caracterización fisicoquímica y evaluación biológica del producto final***

Se tomó como referencia los criterios de aceptación descritos por **Krongrawa et al. (2018)** y **Darsono et al. (2024)** en dicho trabajo se evalúa de forma sistemática diferentes criterios fisicoquímicos presentes en la **Tabla 4**.

**Tabla 4***Criterios de aceptación para las propiedades físicoquímicas del gel.*

| <b>Parámetro</b> | <b>Criterio de aceptación</b>                                                               | <b>Metodología</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Apariencia       | Gel uniforme, sin separación de fases, sin precipitados visibles                            | Inspección visual directa                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| Color            | Característico del extracto de polifenoles, sin cambios evidentes durante el almacenamiento | Inspección visual directa                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| Olor             | Característico, sin olores extraños o indicios de degradación                               | Evaluación organoléptica                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| Homogeneidad     | Ausencia de grumos, partículas agregadas o fases diferenciadas                              | Inspección visual directa                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| pH               | Valores comprendidos aproximadamente entre 5,5 y 6,0                                        | El pH se midió directamente en el gel con un potenciómetro previamente calibrado, registrando la lectura una vez estabilizada. Cada formulación se analizó por triplicado ( <b>Krongrawa et al., 2018</b> ).                                                                                                                            |
| Viscosidad       | Especificación general para geles con Carbomeros NF: 10 000 – 35 000 cP                     | En el viscosímetro se seleccionó y acopló el husillo 4. Se colocó el vaso en el soporte y se bajó el husillo hasta la marca indicada por el fabricante. Se fijó una velocidad de 20.0 rpm y se dejó girar hasta que la lectura se estabilice. Se registró el valor de viscosidad en cP y se repitió las mediciones tres veces para cada |

---

|                |                |         |      |                                                                                                                                                                                                                                                         |
|----------------|----------------|---------|------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                |                |         |      | formulación, reportando el promedio<br><b>(Unid States Pharmacopeial, 2018).</b>                                                                                                                                                                        |
| Extensibilidad | Requisito      | general | para | Se colocó 0,5 g de gel en el centro de una placa de vidrio marcada con un círculo de 2 cm de diámetro. Se cubrió con otra placa y se aplicó un peso de 200 g durante 1 min. Se midió el diámetro de la mancha <b>(Unid States Pharmacopeial, 2018).</b> |
|                | geles: 5–7 cm. |         |      |                                                                                                                                                                                                                                                         |

---

Por otra parte, la evaluación química del gel se realizó mediante la determinación de su actividad antioxidante frente al radical DPPH, siguiendo el procedimiento descrito en el apartado **2.2.2**. Los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición (%I) y como concentración equivalente de Trolox. Para la selección de la formulación óptima, se realizó una comparación de la actividad antioxidante entre las diferentes formulaciones evaluadas, seleccionándose aquella que presentó el mejor desempeño en dicha determinación.

## CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1. Análisis y discusión de los resultados

#### 3.1.1 Extracción de polifenoles a partir de la cáscara de la vaina de *Theobroma cacao* L.

En la **Tabla 5** se presentan los resultados del contenido total de polifenoles (CTP), expresados como mg GAE/g de muestra seca, obtenidos a partir de la curva de calibración del ácido gálico, la cual presento una ecuación lineal de  $y = 0,0084x + 0,447$  (**Anexo B**).

**Tabla 5**

*Contenido de polifenoles de los diferentes tratamientos.*

| Tratamiento | Factor A<br>Etanol (%) | Factor B<br>Relación S/L | Factor C<br>Temp. (°C) | CFT (mg<br>GAE/g) |
|-------------|------------------------|--------------------------|------------------------|-------------------|
| 1           | 50                     | 1:20                     | 30                     | 15.49             |
| 2           | 70                     | 1:20                     | 30                     | 19.03             |
| 3           | 50                     | 1:6                      | 30                     | 8.27              |
| 4           | 70                     | 1:6                      | 30                     | 10.05             |
| 5           | 50                     | 1:20                     | 40                     | 17.90             |
| 6           | 70                     | 1:20                     | 40                     | 17.58             |
| 7           | 50                     | 1:6                      | 40                     | 9.67              |
| 8           | 70                     | 1:6                      | 40                     | 8.85              |

*Nota.* Elaboración propia

Los resultados obtenidos mostraron variaciones en el contenido de polifenoles entre los distintos tratamientos, con valores comprendidos entre 8,27 y 19,03 mg GAE/g, lo que evidencia diferencias en la eficiencia de extracción. El mayor rendimiento se registró en el tratamiento 2, correspondiente al uso de un disolvente con 70 % de etanol y una relación S/L de 1:20 (5 g de material vegetal/100 mL de disolvente). En contraste, otros tratamientos presentaron valores considerablemente menores, indicando un comportamiento no uniforme en la respuesta experimental. Estas variaciones sugieren una posible influencia de los factores evaluados sobre el proceso de extracción, por lo que se realizó un análisis de varianza (**Tabla 6**) con el fin de determinar la significancia estadística de dichas diferencias.

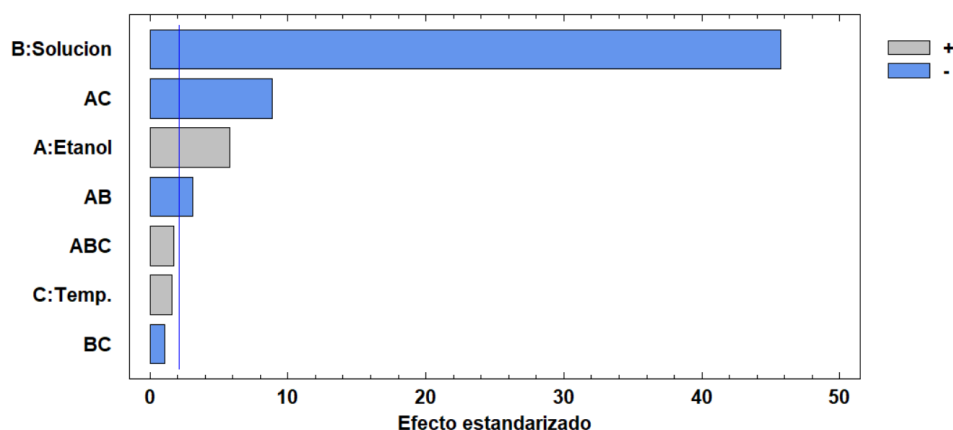
**Tabla 6***Análisis de varianza para el CTP*

| Fuente         | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|----------------|-------------------|----|----------------|---------|---------|
| A:Etanol (%)   | 6,58354           | 1  | 6,58354        | 33,37   | 0,0000  |
| B:Solución S/L | 411,93            | 1  | 411,93         | 2087,70 | 0,0000  |
| C:Temp.(°C)    | 0,513338          | 1  | 0,513338       | 2,60    | 0,1263  |
| AB             | 1,9097            | 1  | 1,9097         | 9,68    | 0,0067  |
| AC             | 15,6009           | 1  | 15,6009        | 79,07   | 0,0000  |
| BC             | 0,222337          | 1  | 0,222337       | 1,13    | 0,3042  |
| ABC            | 0,585937          | 1  | 0,585937       | 2,97    | 0,1041  |
| Error total    | 3,157             | 16 | 0,197312       |         |         |
| Total (corr.)  | 440,503           | 23 |                |         |         |

*Nota.* Elaboración propia

De acuerdo con la **Tabla 6**, el análisis de varianza evidenció que los factores A (% etanol) y B (relación S/L) presentan un efecto significativo sobre el contenido total de polifenoles ( $p < 0,05$ ). Las interacciones AB y AC resultaron significativas, mientras que el factor C (temperatura) y las interacciones BC y ABC no mostraron efecto significativo.

Con el propósito de identificar la magnitud e influencia de cada variable sobre el proceso de extracción, se elaboró el diagrama de Pareto mostrado en la **Figura 5**.

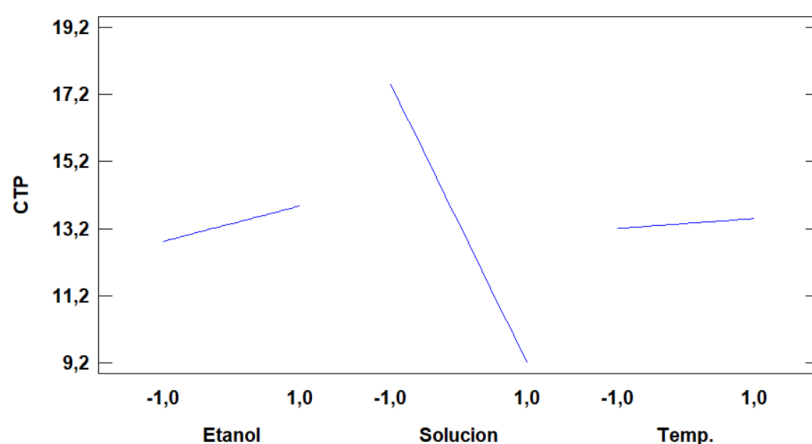
**Figura 5***Diagrama de Pareto de los efectos de las variables independiente*

En la **Figura 5** se evidencia que la relación S/L corresponde al factor con mayor efecto estandarizado y presenta una influencia negativa sobre la respuesta. Esto indica que una menor proporción de material vegetal favorece la obtención de mayores concentraciones de polifenoles. Por otra parte, el porcentaje de etanol mostró un efecto positivo, lo que sugiere que el incremento en la concentración del disolvente mejora la capacidad de extracción de compuestos fenólicos presentes en la matriz vegetal.

Con la finalidad de visualizar el comportamiento individual de las variables estudiadas sobre la respuesta experimental, se desarrolló la gráfica de efectos principales (**Figura 6**).

**Figura 6**

*Gráfica de efectos principales*



En la **Figura 6** se observa que el factor A (% de etanol), al pasar de un nivel bajo (50 % de etanol) a un nivel alto (70 % de etanol), incrementó significativamente la extracción de polifenoles, siendo el tratamiento con 70 % de etanol el que presentó el mayor rendimiento extractivo.

Basandose en **Dewi et al. (2022)** este comportamiento se relaciona con la estructura química de los polifenoles, ya que estos compuestos poseen grupos hidroxilo (-OH) y anillos aromáticos en su estructura molecular. La mayor proporción de etanol favorece la interacción con las regiones aromáticas de los compuestos fenólicos, aumentando su solubilidad y facilitando su transferencia hacia el medio extractante. Además, la presencia de agua en la mezcla contribuye a la penetración del solvente en la matriz vegetal y a la liberación de los metabolitos de interés. Debido a ello, soluciones hidroalcohólicas con concentraciones cercanas al 70 % de etanol suelen proporcionar mayores rendimientos de extracción y mejor recuperación de compuestos fenólicos en comparación con concentraciones menores o solventes completamente acuosos.

Además, para el factor B (relación S/L) se observó una variación marcada entre los niveles evaluados. El nivel bajo correspondiente a la relación 1:20, en la que se emplearon 5 g de material vegetal en 100 mL de disolvente, presentó una mayor concentración de polifenoles, evidenciando una extracción más eficiente. En contraste, el nivel alto correspondiente a la relación 1:6, donde se utilizaron 16,67 g de material vegetal en el mismo volumen de disolvente, mostró una menor recuperación de compuestos fenólicos. En contraste, cuando se emplean mayores volúmenes de material vegetal, el sistema puede saturarse rápidamente, limitando la capacidad de extracción de metabolitos bioactivos. En este contexto, **Rebollo-Hernanz et al. (2021)**, reportaron que el incremento de la relación S/L mejora significativamente el rendimiento extractivo debido a la mayor disponibilidad de solvente para interactuar con la matriz vegetal. De manera similar, **Jovanović et al. (2021)** corroboran que la relación S/L elevadas permiten reducir la saturación del solvente y aumentar la eficiencia de extracción.

En cuanto a la temperatura, su efecto no fue significativo de manera individual; sin embargo, su interacción con el etanol sugiere que su influencia depende de la combinación de factores. Este comportamiento ha sido descrito por **Sánchez et al. (2023)**, indica que, aunque el incremento de temperatura puede mejorar la difusión, también puede favorecer la degradación de compuestos fenólicos bajo ciertas condiciones.

Al comparar los resultados obtenidos con estudios previos, se observa que el contenido de polifenoles determinado en esta investigación fue considerablemente superior a los valores reportados en la literatura. **Rebollo-Hernanz et al. (2021)**, evaluaron la extracción de compuestos fenólicos a partir de cáscara de cacao mediante un proceso de extracción acuosa verde, obteniendo un valor 7,33 mg GAE/g bajo condiciones óptimas de 100 °C, 47,5 min y una relación S/L de 0,02 g/mL. La diferencia observada puede atribuirse principalmente al método de extracción empleado, ya que dichos autores utilizaron únicamente agua como solvente, mientras que en el presente estudio se empleó etanol al 70 %, favoreciendo una mayor recuperación de compuestos fenólicos.

De manera similar, **Rahayu et al. (2023)** reportaron un contenido de 5,94 mg GAE/g utilizando cáscara de cacao y etanol al 70 % como solvente de extracción. No obstante, estas diferencias pueden atribuirse principalmente a la mayor proporción de material vegetal empleada en dichos trabajos respecto al volumen de disolvente utilizado, lo que puede generar una rápida saturación del medio extractante y limitar la transferencia de masa. En este sentido, los valores obtenidos en la presente investigación, que alcanzaron hasta 19,03 mg GAE/g, evidencian una mejora significativa en el rendimiento de extracción, confirmando que la

optimización de factores como la relación S/L y la concentración del disolvente favorece la recuperación de compuestos fenólicos.

### 3.1.2 Determinación de la actividad antioxidante

La determinación de la actividad antioxidante se realizó mediante el método DPPH empleando Trolox como estándar de referencia, con el fin de establecer una curva de calibración que permitiera cuantificar la capacidad antioxidante del extracto obtenido. Para ello, se prepararon diferentes concentraciones del estándar y se registró la absorbancia a 515 nm, obteniéndose una relación lineal entre la concentración de Trolox y la respuesta espectrofotométrica. La ecuación de la recta obtenida fue  $y=0,1694x + 2,2329$  con un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 0,9984, evidenciando una adecuada linealidad del método analítico utilizado (**Anexo C y D**).

Posteriormente, con base en el mejor tratamiento obtenido durante la extracción de polifenoles (T2), se realizó la evaluación por triplicado, con el propósito de determinar la capacidad del extracto para neutralizar radicales libres. Los resultados experimentales obtenidos fueron promediados y se presentan en la **Tabla 7**, expresando la actividad antioxidante del extracto en función de su capacidad de inhibición del radical DPPH.

**Tabla 7**

*Determinación de la actividad antioxidante*

| Tratamiento | Absorbancia<br>(515 nm) | % de inhibición | Concentración<br>[uM trolox /L] |
|-------------|-------------------------|-----------------|---------------------------------|
| 2           | $0.23 \pm 0.0036$       | 71,28           | 407,596                         |

*Nota.* Elaboración propia (**Anexo E**).

Los resultados obtenidos evidenciaron que el tratamiento T2 presentó una importante capacidad antioxidante, alcanzando un porcentaje de inhibición del radical DPPH de 71,28%. Estos resultados indican la presencia de compuestos con capacidad donadora de electrones o átomos de hidrógeno, los cuales contribuyen a la neutralización de radicales libres. En este sentido, **Alexandrino et al. (2021)** reportaron que extractos vegetales ricos en compuestos fenólicos presentaron elevada actividad antioxidante mediante el método DPPH, atribuyendo este comportamiento a la capacidad reductora de los polifenoles presentes en los extractos. De manera similar, **Yu et al. (2021)** señalaron que existe una relación directa entre el contenido fenólico y la capacidad antioxidante de extractos vegetales evaluados por métodos espectrofotométricos como DPPH y ABTS.

La adecuada linealidad obtenida en la curva de calibración ( $R^2 = 0.9984$ ) evidencia la confiabilidad del método analítico empleado para la cuantificación de la actividad antioxidante. Estos resultados coinciden con lo reportado por **Kadir, (2021)** quien indicó que métodos basados en DPPH presentan alta reproducibilidad y sensibilidad para evaluar extractos ricos en compuestos fenólicos. Del mismo modo, **Wang et al. (2021)** mencionaron que los extractos obtenidos mediante solventes hidroalcohólicos muestran mayor capacidad de captura de radicales libres debido a la eficiente extracción de metabolitos fenólicos antioxidantes.

Al comparar los resultados con estudios previos que emplearon etanol al 70 % como solvente, **Rachmawaty et al. (2019)** reportaron un porcentaje de inhibición del DPPH de 61,583 % para el extracto de cáscara de mazorca de cacao obtenido por maceración. Aunque el valor obtenido en esta investigación fue moderadamente superior, las diferencias pueden explicarse principalmente por las condiciones de extracción. En el presente trabajo se utilizó extracción asistida por ultrasonido durante 30 minutos a 30 °C, mientras que el estudio analizado emplearon maceración durante 48 horas con una relación sólido:líquido más concentrada (1:3). Estas condiciones más intensas en tiempo pudieron permitir una mayor liberación de compuestos fenólicos en su estudio.

A pesar de la diferencia observada, el porcentaje de inhibición obtenido (71,28 %) sigue siendo relevante y demuestra el potencial antioxidante de la cáscara de cacao CCN-51 cultivada en Ecuador cuando se emplea etanol al 70 % como solvente. Este resultado es consistente con el alto contenido de polifenoles extraídos y refuerza el valor de este residuo agroindustrial para aplicaciones en formulaciones cosméticas.

### ***3.1.3 Elaboración un gel tópico a base del extracto de polifenoles.***

#### **3.1.3.1 Concentración del extracto polifenólico mediante rotavapor**

Con el fin de disponer de una fuente concentrada de compuestos fenólicos para la elaboración de los geles tópicos, se determinó el contenido de polifenoles presente en el extracto obtenido tras el proceso de concentración y se registraron los parámetros necesarios para calcular la cantidad de compuestos fenólicos disponibles por unidad de masa de extracto, información fundamental para establecer la dosificación del principio activo en las formulaciones desarrolladas. Los resultados se presentan en la **Tabla 8**.

**Tabla 8**

*Parámetros obtenidos del extracto concentrado empleado para la formulación del gel tópico.*

| Parámetro                     | Unidad    | Valor |
|-------------------------------|-----------|-------|
| Volumen inicial del extracto  | mL        | 200   |
| Concentración de polifenoles  | mg GAE/mL | 19,03 |
| Volumen final del extracto    | mL        | 40    |
| Masa del extracto concentrado | g         | 44,92 |

*Nota.* Elaboración propia.

Los cálculos realizados (**Anexo F**) a partir de los datos presentados en la **Tabla 8**, empleando las ecuaciones (3) y (4), permitieron estimar un contenido de polifenoles de 84,73 mg GAE/g en el extracto concentrado. Este valor permitió cuantificar la cantidad de compuestos fenólicos presentes por unidad de masa del extracto y sirvió como referencia para establecer la proporción de principio activo incorporada en cada una de las formulaciones del gel tópico.

Al comparar estos resultados con estudios recientes, se observa que los valores obtenidos se encuentran dentro de los rangos reportados para extractos de cáscara de cacao obtenidos mediante solventes hidroalcohólicos. En este sentido, **Anatachodwanit et al. (2025)** reportaron contenidos fenólicos de hasta 170,98 mg GAE/g de extracto en cáscara de cacao, atribuyendo este comportamiento a la capacidad de los sistemas hidroalcohólicos para favorecer la extracción y recuperación de compuestos fenólicos presentes en la matriz vegetal. Aunque dicho valor fue superior al obtenido en la presente investigación, las diferencias observadas pueden atribuirse a que en este caso a pesar del solvente se hidroalcohólico este se encontraba acidificado, condición que favorece la ruptura de interacciones entre los compuestos fenólicos y la matriz vegetal.

### **3.1.3.2 Formulación de los geles tópicos**

Una vez determinado el contenido de polifenoles del extracto concentrado, se elaboraron tres formulaciones de gel tópico cuyas composiciones se encuentran descritas en la **Tabla 3**. Las formulaciones difirieron únicamente en la concentración del extracto polifenólico incorporado, con el propósito de evaluar la influencia de este factor sobre las propiedades fisicoquímicas y la actividad antioxidante del producto final. La **Figura 7** muestra el aspecto general de las formulaciones obtenidas después de su elaboración.

**Figura 7**

*Formulaciones de gel tópico elaboradas con diferentes concentraciones de extracto polifenólico de cáscara de vaina de cacao*



*Nota.* Elaboración propia

Por otra parte, considerando que el extracto concentrado presentó un contenido de 84,73 mg GAE/g, se estimó la cantidad de compuestos fenólicos incorporados en cada formulación a partir de la masa de extracto utilizada en los lotes de 30 g. Los resultados obtenidos se presentan en la **Tabla 9**.

**Tabla 9**

*Cantidad estimada de extracto y polifenoles incorporados en las formulaciones de gel tópico.*

| <b>Formulación</b> | <b>Extracto incorporado (g)</b> | <b>Polifenoles incorporados (mg GAE)</b> |
|--------------------|---------------------------------|------------------------------------------|
| A (3%)             | 0,90                            | 76,26                                    |
| B (5%)             | 1,50                            | 127,10                                   |
| C (7%)             | 2,10                            | 177,93                                   |

*Nota.* Los valores fueron estimados a partir del contenido de polifenoles del extracto concentrado mencionado anteriormente.

### **3.1.3.3 Caracterización fisicoquímica de las formulaciones**

Con el fin de verificar la calidad de las formulaciones obtenidas y su adecuación para la aplicación tópica, se evaluaron parámetros organolépticos y fisicoquímicos considerados relevantes para este tipo de sistemas semisólidos. Entre ellos se incluyeron la apariencia, color, olor, homogeneidad, pH, viscosidad y extensibilidad. Los resultados obtenidos para cada formulación se presentan en la **Tabla 10**.

**Tabla 10**

*Caracterización fisicoquímica de las formulaciones de gel tópico elaboradas con extracto polifenólico.*

| Parámetro              | Formulación A<br>(3%)                 | Formulación B<br>(5%)                        | Formulación<br>C (7%)                   | Criterio de<br>aceptación                   |
|------------------------|---------------------------------------|----------------------------------------------|-----------------------------------------|---------------------------------------------|
| Apariencia             | Cumple                                | Cumple                                       | Cumple                                  | Gel uniforme,<br>sin separación<br>de fases |
| Color                  | Transparente con<br>un leve tono piel | Transparente con<br>un leve tono<br>amarillo | Transparente<br>con un tono<br>amarillo | Característico                              |
| Olor                   | Característico                        | Característico                               | Característico                          | Característico                              |
| Homogeneidad           | Cumple                                | Cumple                                       | Cumple                                  | Sin grumos ni<br>partículas<br>visibles     |
| pH                     | 5,63 ± 0,075                          | 5,69 ± 0,053                                 | 5,68 ± 0,109                            | 5,5 – 6,0                                   |
| Viscosidad<br>(cP)     | 17 980                                | 22 200                                       | 25 145                                  | 10 000 –35 000                              |
| Extensibilidad<br>(cm) | 5,8                                   | 5.5                                          | 5.2                                     | 5 – 7                                       |

*Nota.* Las evidencias fotográficas de las determinaciones de pH, viscosidad y extensibilidad realizadas para las diferentes formulaciones se presentan en los **Anexos G, H, I, J y Kg**.

En cuanto a las características organolépticas, todas las formulaciones presentaron una apariencia uniforme, ausencia de separación de fases, olor característico y adecuada homogeneidad. Respecto al color, se observó un incremento gradual de la tonalidad café parduzca conforme aumentó la concentración del extracto polifenólico incorporado, comportamiento atribuible a la mayor presencia de compuestos fenólicos y otros pigmentos naturales provenientes de la cáscara de la vaina de cacao.

Los valores de pH obtenidos para las formulaciones A, B y C (5,63–5,69) se encontraron dentro del rango de aceptación establecido para geles tópicos y próximos al pH fisiológico de la piel. Esto indica una adecuada neutralización del Carbopol 940 mediante trietanolamina y sugiere que la incorporación del extracto polifenólico no alteró

significativamente la estabilidad del sistema. De acuerdo con **Lukić et al. (2021)**, los geles formulados con Carbopol presentan un comportamiento óptimo cuando el pH se encuentra cercano a la neutralidad, favoreciendo el desarrollo de sus propiedades gelificantes. De igual manera, estudios desarrollados por **Bayan et al. (2023)** reportaron valores de pH cercanos a 6,0 en formulaciones tópicas elaboradas con Carbopol 940, Por tanto, los valores obtenidos en este estudio indican que la incorporación del extracto polifenólico no alteró significativamente la estructura del sistema gelificado.

Por otra parte, se observó un incremento progresivo de la viscosidad desde 17.980 cP hasta 25.145 cP conforme aumentó la concentración del extracto polifenólico, mientras que paralelamente la extensibilidad disminuyó de 5,8 cm a 5,2 cm. Este comportamiento refleja una relación inversa entre ambos parámetros y es consistente con los principios reológicos descritos por **Budai et al. (2023)**, quienes señalan que la viscosidad de los hidrogeles está directamente relacionada con la concentración de los componentes de la matriz polimérica y con las interacciones entre estos y los principios activos incorporados. En el presente estudio, el aumento de la concentración del extracto introdujo una mayor cantidad de compuestos fenólicos en la red de Carbomer 940, lo que probablemente incrementó el entrelazamiento (entanglement) de las cadenas poliméricas y las interacciones secundarias (como puentes de hidrógeno) entre los polifenoles y el polímero, resultando en una mayor resistencia al flujo y una menor capacidad de extensión.

Dado que la extensibilidad es un parámetro crítico para la dosificación y la aceptabilidad de productos tópicos, la formulación A (3%) presenta ventajas sobre las de mayor concentración al combinar una viscosidad adecuada con una mayor extensibilidad, lo que facilitaría su aplicación uniforme sobre la piel

#### **3.1.3.4 Evaluación de la actividad antioxidante**

Con el propósito de determinar el efecto de la concentración del extracto polifenólico sobre la capacidad antioxidante del producto final, se evaluaron las tres formulaciones de gel mediante el ensayo de captura del radical libre DPPH. Los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición y como concentración equivalente de Trolox, permitiendo comparar la actividad antioxidante de cada tratamiento. Los resultados obtenidos se presentan en la **Tabla 11**.

**Tabla 11**

*Actividad antioxidante de las formulaciones de gel tópico evaluadas mediante el método DPPH.*

| Formulación | ABS<br>(nm)   | % Inhibición | Equivalente Tolox<br>(uM/L) |
|-------------|---------------|--------------|-----------------------------|
| A           | 0,342 ± 0,027 | 54,028       | 305,759                     |
| B           | 0,336 ± 0,031 | 55,029       | 311,665                     |
| C           | 0,352 ± 0,020 | 52,494       | 296,670                     |

*Nota.* Elaboración propia

Los resultados mostraron diferencias moderadas en la actividad antioxidante de las formulaciones evaluadas. La formulación B presentó el mayor porcentaje de inhibición del radical DPPH (55,029 %), así como la mayor concentración equivalente de Trolox (311,665  $\mu\text{M/L}$ ), seguida muy de cerca por la formulación A (54,028 % y 305,759  $\mu\text{M/L}$ ). Por su parte, la formulación C registró los menores valores para ambos parámetros (52,494 % y 296,670  $\mu\text{M/L}$ ).

Los resultados indican que el incremento de la concentración del extracto polifenólico desde 3 % hasta 5 % favoreció ligeramente la actividad antioxidante del gel. Sin embargo, al aumentar la concentración hasta 7 %, se observó una disminución de la capacidad captadora del radical DPPH. Este comportamiento sugiere que la actividad antioxidante de las formulaciones no dependió exclusivamente de la cantidad de extracto incorporado, sino también de factores relacionados con la interacción de los compuestos fenólicos con la matriz gelificada y su disponibilidad efectiva durante el ensayo.

Aunque la formulación B presentó el valor más alto de actividad antioxidante, la diferencia respecto a la formulación A fue reducida (1,001 % de inhibición), por lo que ambas formulaciones exhibieron comportamientos antioxidantes comparables. Considerando además los resultados de viscosidad y extensibilidad, la formulación A presentó características tecnológicas más favorables para su aplicación tópica, al combinar una elevada actividad antioxidante con una menor viscosidad y mayor capacidad de extensión sobre la superficie de la piel. En consecuencia, la formulación A fue seleccionada como la formulación óptima, debido a que ofrece un equilibrio adecuado entre funcionalidad antioxidante y propiedades fisicoquímicas de aplicación.

Resultados similares han sido reportados por **Sulistyowati et al. (2024)**, quienes desarrollaron geles antiaging elaborados con fracción acuosa de hojas de *Rubus fraxinifolius* y observaron que el incremento de la concentración de la fracción activa no produjo mejoras proporcionales en la actividad antioxidante determinada mediante DPPH. Los autores reportaron que la formulación con menor concentración presentó los mejores resultados antioxidantes, mientras que formulaciones más concentradas mostraron una disminución de esta actividad, fenómeno atribuido a cambios en la estabilidad del sistema y a las características fisicoquímicas de la formulación. Estos hallazgos guardan relación con los resultados obtenidos en la presente investigación, donde el aumento de la concentración del extracto desde 5 % hasta 7 % no mejoró la actividad antioxidante del gel y, por el contrario, produjo una ligera disminución del porcentaje de inhibición del radical DPPH.

Diversos estudios han demostrado que los hidrogeles formulados con Carbopol constituyen sistemas adecuados para la incorporación y conservación de compuestos con actividad antioxidante. En este sentido, **Zhang et al. (2022)** desarrollaron un hidrogel basado en Carbopol 934 cargado con kaempferol, un flavonoide reconocido por su elevada capacidad antioxidante, y reportaron que tanto el compuesto libre como la formulación gelificada mantuvieron una importante actividad captadora de radicales libres mediante los ensayos de DPPH y peróxido de hidrógeno. Los autores también observaron que la matriz polimérica permitió una adecuada liberación del compuesto bioactivo, alcanzando porcentajes de liberación de hasta  $70,89 \pm 8,91$  % a pH 5,4 y  $87,90 \pm 10,13$  % a pH 7,4. Estos resultados coinciden con lo observado en la presente investigación, donde las tres formulaciones elaboradas conservaron una actividad antioxidante superior al 50 % de inhibición del radical DPPH, evidenciando que el Carbopol favoreció la obtención de sistemas físicamente estables capaces de mantener la funcionalidad antioxidante del extracto polifenólico de cáscara de vaina de cacao.

Por otra parte, aunque la formulación B presentó el mayor porcentaje de inhibición (55,029 %) y la mayor concentración equivalente de Trolox ( $311,665 \mu\text{M/L}$ ), la diferencia respecto a la formulación A fue reducida, mientras que la formulación C presentó una ligera disminución en ambos parámetros. Este comportamiento sugiere que la actividad antioxidante del sistema no dependió exclusivamente de la cantidad de polifenoles incorporados. Investigaciones recientes han señalado que incrementos en la concentración de sólidos vegetales pueden favorecer fenómenos de agregación, interacciones intermoleculares o limitaciones difusionales dentro de la matriz polimérica, reduciendo la disponibilidad efectiva de los compuestos antioxidantes durante los ensayos in vitro (**Samsuar & Hanifa, 2020**). En

consecuencia, los resultados obtenidos indican que la eficiencia antioxidante del gel dependió no solo de la cantidad de polifenoles incorporados, sino también de su capacidad para permanecer accesibles y funcionales dentro de la estructura gelificada.

Adicionalmente, las diferencias observadas entre las formulaciones podrían estar asociadas, en parte, a interferencias analíticas durante el ensayo DPPH. Se observó que las formulaciones con mayor contenido de extracto presentaron una tonalidad progresivamente más intensa, desde un tono piel claro hasta tonalidades amarillas más marcadas, lo que podría haber influido en la medición espectrofotométrica realizada a 515 nm. Diversos estudios han señalado que los compuestos coloreados presentes en extractos vegetales pueden absorber radiación en regiones cercanas a la longitud de onda utilizada en el método DPPH, generando posibles subestimaciones de la capacidad antioxidante real (**Kotha et al., 2022**). Por tanto, además de las interacciones entre los polifenoles y la matriz gelificada, no se descarta que la coloración propia de las formulaciones haya contribuido parcialmente a las variaciones observadas en los porcentajes de inhibición obtenidos.

## CAPÍTULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 4.1. Conclusiones

Se logró formular exitosamente un gel tópico a base de extracto de polifenoles obtenidos de la cáscara de *Theobroma cacao* L., obteniéndose formulaciones estables y con características fisicoquímicas adecuadas para aplicación cutánea. Las formulaciones A,B y C presentaron actividad antioxidante, en un rango de 54% a 55% de inhibición del radical DPPH, demostrando que el extracto conservó su capacidad antioxidante tras su incorporación en la matriz gelificada y confirmando la viabilidad del aprovechamiento de este residuo agroindustrial para el desarrollo de productos tópicos antioxidantes.

Se consiguió extraer polifenoles a partir de la cáscara de la vaina de *Theobroma cacao* L., obteniéndose un contenido máximo de 19,03 mg GAE/g en el tratamiento T2, correspondiente a 70 % de etanol, relación S/L 1:20 y 30 °C. El análisis estadístico evidenció que la concentración de etanol y principalmente, la relación S/L influyeron significativamente en el rendimiento extractivo, demostrando que la optimización de las condiciones de extracción permite maximizar la recuperación de compuestos fenólicos presentes en este residuo agroindustrial.

La actividad antioxidante del extracto obtenido en el tratamiento óptimo (T2) presentó un porcentaje de inhibición del radical DPPH de 71,28 % y una capacidad antioxidante equivalente a 407,596  $\mu$ M Trolox/L, confirmando la presencia de compuestos fenólicos con capacidad reductora y neutralizadora de radicales libres. Además, la elevada linealidad de la curva de calibración ( $R^2 = 0,9984$ ) evidenció la confiabilidad del método analítico empleado, permitiendo concluir que el extracto de polifenoles de la cáscara de cacao posee un importante potencial antioxidante.

Se elaboraron satisfactoriamente tres formulaciones de gel tópico con extracto polifenólico de cáscara de vaina de cacao en concentraciones de 3, 5 y 7 %. Todas presentaron características fisicoquímicas adecuadas para su aplicación tópica, incluyendo apariencia homogénea, ausencia de separación de fases, valores de pH entre 5,63 y 5,69, viscosidades de 17 980 a 25 145 cP y extensibilidades entre 5,2 y 5,8 cm. Además, las tres formulaciones mostraron una actividad antioxidante superior al 50 % de inhibición del radical DPPH. Aunque la formulación B (5 %) presentó el mayor porcentaje de inhibición, la diferencia respecto a la formulación A (3 %) fue mínima, por lo que esta última fue seleccionada como la formulación óptima debido a su mejor extensibilidad y adecuada actividad antioxidante (54,028%).

### **3.2. Recomendaciones**

- Evaluar nuevas relaciones sólido/líquido durante el proceso de extracción asistida por ultrasonido, incluyendo valores intermedios y superiores a la relación 1:20, con el fin de determinar si es posible incrementar aún más la recuperación de compuestos fenólicos y optimizar el rendimiento extractivo.
- Investigar el efecto de otros parámetros de extracción, como diferentes frecuencias ultrasónicas o concentraciones adicionales de etanol, para establecer condiciones que maximicen simultáneamente el contenido de polifenoles y la actividad antioxidante del extracto.
- Realizar estudios complementarios de estabilidad acelerada, liberación de compuestos activos y permeación cutánea de la formulación seleccionada, con el propósito de verificar la conservación de la actividad antioxidante durante el almacenamiento y evaluar su potencial aplicación cosmética o cosmeceútica a largo plazo.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alexandrino, T. D., da Silva, M. G., Ferrari, R. A., Ruiz, A. L. T. G., Duarte, R. M. T., Simabuco, F. M., Bezerra, R. M. N., & Pacheco, M. T. B. (2021). Evaluation of some in vitro bioactivities of sunflower phenolic compounds. *Current Research in Food Science*, 4, 662–669. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.09.007>
- Anatachodwanit, A., Chanpirom, S., Tree-Udom, T., Kitthaweesinpoon, S., Jiamphun, S., Aryuwat, O., Tantapakul, C., Vinardell, M. P., & Sripisut, T. (2025). Upcycled Cocoa Pod Husk: A Sustainable Source of Phenol and Polyphenol Ingredients for Skin Hydration, Whitening, and Anti-Aging. *Life*, 15. <https://doi.org/10.3390/life15071126>
- Bayan, M. F., Chandrasekaran, B., & Alyami, M. H. (2023). Development and Characterization of Econazole Topical Gel. *Gels*, 9. <https://doi.org/10.3390/gels9120929>
- Berner, F., Passeron, T., Castiel, I., & Marionnet, C. (2022). The Damaging Effects of Long UVA (UVA1) Rays: A Major Challenge to Preserve Skin Health and Integrity. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 23). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms23158243>
- Bobo-García, G., Davidov-Pardo, G., Arroqui, C., Vírveda, P., Marín-Arroyo, M. R., & Navarro, M. (2015). Intra-laboratory validation of microplate methods for total phenolic content and antioxidant activity on polyphenolic extracts, and comparison with conventional spectrophotometric methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95, 204–209. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6706>
- Budai, L., Budai, M., Fülöpné Pápay, Z. E., Vilimi, Z., & Antal, I. (2023). Rheological Considerations of Pharmaceutical Formulations: Focus on Viscoelasticity. In *Gels* (Vol. 9). MDPI. <https://doi.org/10.3390/gels9060469>
- Budzianowska, A., Banaś, K., Budzianowski, J., & Kikowska, M. (2025). Antioxidants to Defend Healthy and Youthful Skin—Current Trends and Future Directions in Cosmetology. In *Applied Sciences (Switzerland)* (Vol. 15). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/app15052571>
- Caicedo-Vargas, C., Pérez-Neira, D., Abad-González, J., & Gallar, D. (2022). Assessment of the environmental impact and economic performance of cacao agroforestry systems in the Ecuadorian Amazon region: An LCA approach. *Science of the Total Environment*, 849. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157795>
- Chedik, L., Baybekov, S., Cosnier, F., Marcou, G., Varnek, A., & Champmartin, C. (2024). An update of skin permeability data based on a systematic review of recent research. *Scientific Data*, 11. <https://doi.org/10.1038/s41597-024-03026-4>
- Christodoulou, M. C., Orellana Palacios, J. C., Hesami, G., Jafarzadeh, S., Lorenzo, J. M., Domínguez, R., Moreno, A., & Hadidi, M. (2022). Spectrophotometric Methods for Measurement of Antioxidant Activity in Food and Pharmaceuticals. In *Antioxidants* (Vol. 11). MDPI. <https://doi.org/10.3390/antiox11112213>
- Correales Guevara, J. D. (2022). *Revisión bibliográfica de los polifenoles del Asaí y su estabilidad química en los procesos de extracción de pulpa realizado en Colombia*.

<https://repository.udca.edu.co/entities/publication/5ff36d11-8c7c-4077-bce7-348d6c7b716e>.

- Darsono, F. L., Soegianto, L., & Jessica, M. A. (2024). Development of standardized kaffir lime fruit peel extract as a gel for antioxidant and anti-acne. *Pharmaciana*, 14, 57. <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v14i1.27076>
- Dewi, S. R., Stevens, L. A., Pearson, A. E., Ferrari, R., Irvine, D. J., & Binner, E. R. (2022). Investigating the role of solvent type and microwave selective heating on the extraction of phenolic compounds from cacao (*Theobroma cacao* L.) pod husk. *Food and Bioproducts Processing*, 134, 210–222. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2022.05.011>
- Gomez, P., Reyes, C., & Figueroa, J. G. (2025). Microwave-Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Cocoa Pod Husk: Process Optimization and Impact of Drying Temperature on Bioactive Recovery. *Molecules*, 30. <https://doi.org/10.3390/molecules30173497>
- Heredia-R, M., Blanco-Gutiérrez, I., Esteve, P., Puhl, L., & Morales-Opazo, C. (2024). Assessment of sustainability in cocoa farms in Ecuador: application of a multidimensional indicator-based framework. *International Journal of Agricultural Sustainability*, 22. <https://doi.org/10.1080/14735903.2024.2379863>
- Hmingthansanga, V., Singh, N., Banerjee, S., Manickam, S., Velayutham, R., & Natesan, S. (2022). Improved Topical Drug Delivery: Role of Permeation Enhancers and Advanced Approaches. *Pharmaceutics*, 14. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14122818>
- Hussen, N. H. amin, Abdulla, S. K., Ali, N. M., Ahmed, V. A., Hasan, A. H., & Qadir, E. E. (2025). Role of antioxidants in skin aging and the molecular mechanism of ROS: A comprehensive review. In *Aspects of Molecular Medicine* (Vol. 5). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.amolm.2025.100063>
- International Organization for Standardization. (2018). *ISO/TR 18811:2018 Cosmetics—Guidelines on the stability testing of cosmetic products*. <https://www.iso.org/standard/64191.html>
- Jean-Marie, E., Jiang, W., Bereau, D., & Robinson, J. C. (2022). *Theobroma cacao* and *Theobroma grandiflorum*: Botany, Composition and Pharmacological Activities of Pods and Seeds. In *Foods* (Vol. 11). MDPI. <https://doi.org/10.3390/foods11243966>
- Jovanović, A. A., Djordjević, V. B., Petrović, P. M., Pljevljakušić, D. S., Zdunić, G. M., Šavikin, K. P., & Bugarski, B. M. (2021). The influence of different extraction conditions on polyphenol content, antioxidant and antimicrobial activities of wild thyme. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 25. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2021.100328>
- Kadir, D. H. (2021). Statistical evaluation of main extraction parameters in twenty plant extracts for obtaining their optimum total phenolic content and its relation to antioxidant and antibacterial activities. *Food Science & Nutrition*, 9, 3491–3499. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2288>

- Kassymova, D. T., & Zhusupova, G. E. (2024). Development and evaluation of topical herbal gels with plant extracts form *Limonium gmelinii*. *SERIES CHEMISTRY AND TECHNOLOGY*. <https://doi.org/10.32014/2024.2518-1491.252>
- Kotha, R. R., Tareq, F. S., Yildiz, E., & Luthria, D. L. (2022). Oxidative Stress and Antioxidants-A Critical Review on In Vitro Antioxidant Assays. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, *11*. <https://doi.org/10.3390/antiox11122388>
- Krongrawa, W., Limmatvapirat, S., Pongnimitprasert, N., Meetam, P., & Limmatvapirat, C. (2018). Formulation and evaluation of gels containing coconut kernel extract for topical application. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, *13*, 415–424. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2018.01.005>
- Kulikova, N., Chernobrovina, A., Roeva, N., & Popova, O. (2023). Evaporation as a Method for Obtaining Plant Concentrates. *Food Processing: Techniques and Technology*, 335–346. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-2-2438>
- Lama-Muñoz, A., & Contreras, M. del M. (2022). Extraction Systems and Analytical Techniques for Food Phenolic Compounds: A Review. In *Foods* (Vol. 11). MDPI. <https://doi.org/10.3390/foods11223671>
- Lang, Y., Gao, N., Zang, Z., Meng, X., Lin, Y., Yang, S., Yang, Y., Jin, Z., & Li, B. (2024). Classification and antioxidant assays of polyphenols: a review. In *Journal of Future Foods* (Vol. 4, pp. 193–204). Beijing Academy of Food Sciences. <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2023.07.002>
- Lukić, M., Pantelić, I., & Savić, S. D. (2021). Towards optimal ph of the skin and topical formulations: From the current state of the art to tailored products. In *Cosmetics* (Vol. 8). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/cosmetics8030069>
- Meza-Sepulveda, D. C., Hernandez-Urrea, C., & Quintero-Saavedra, J. I. (2024). Physicochemical characterization of the pod husk of *Theobroma cacao* L. of clones CCN51, FEAR5, and FSV41 and its agroindustrial application. *Heliyon*, *10*, e28761. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e28761>
- Muñoz-Bernal, Ó. A., Torres-Aguirre, G. A., Núñez-Gastélum, J. A., de la Rosa, L. A., Rodrigo-García, J., Ayala-Zavala, J. F., & Álvarez-Parrilla, E. (2017). NUEVO ACERCAMIENTO A LA INTERACCIÓN DEL REACTIVO DE FOLIN-CIOCALTEU CON AZÚCARES DURANTE LA CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES. *TIP*, *20*, 23–28. <https://doi.org/10.1016/j.recqb.2017.04.003>
- Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 22). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>
- Oroian, M., Ursachi, F., & Dranca, F. (2020). Influence of ultrasonic amplitude, temperature, time and solvent concentration on bioactive compounds extraction from propolis. *Ultrasonics Sonochemistry*, *64*. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105021>
- Pérez, M., Dominguez-López, I., & Lamuela-Raventós, R. (2023). The Chemistry Behind the Folin–Ciocalteu Method for the Estimation of (Poly)phenol Content in Food: Total

- Phenolic Intake in a Mediterranean Dietary Pattern. *Public Health Nutrition*, 14, 2274–2284. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c04022>
- Quiceno-Suarez, A., Cadena-Chamorro, E. M., Ciro-Velásquez, H. J., & Arango-Tobón, J. C. (2024). By-products of the cocoa agribusiness: high value-added materials based on their bromatological and chemical characterization. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 77, 10585–10599. <https://doi.org/10.15446/rfnam.v77n1.107738>
- Rachmawaty, Mu’Nisa, A., Hasri, A., Pagarra, H., & Hartati. (2019). Analysis of phenolic content and antioxidant activity of cocoa pod husk (*Theobroma cacao* L.). *Journal of Physics: Conference Series*, 1317. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1317/1/012087>
- Rahayu, Y. C., Setiawatie, E. M., Rahayu, R. P., & Ramadan, D. E. (2023). Analysis of antioxidant and antibacterial activity of cocoa pod husk extract (*Theobroma cacao* L.). *Dental Journal*, 56, 220–225. <https://doi.org/10.20473/J.DJMKG.V56.I4.P220-225>
- Ramos-Escudero, F., Casimiro-Gonzales, S., Cádiz-Gurrea, M. de la L., Cancino Chávez, K., Basilio-Atencio, J., Ordoñez, E. S., Muñoz, A. M., & Segura-Carretero, A. (2023). Optimizing vacuum drying process of polyphenols, flavanols and DPPH radical scavenging assay in pod husk and bean shell cocoa. *Scientific Reports*, 13. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-40815-0>
- Rebollo-Hernanz, M., Cañas, S., Taladrid, D., Segovia, Á., Bartolomé, B., Aguilera, Y., & Martín-Cabrejas, M. A. (2021). Extraction of phenolic compounds from cocoa shell: Modeling using response surface methodology and artificial neural networks. *Separation and Purification Technology*, 270. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2021.118779>
- Reyes-Flores, S., Udenigwe, C., Ramírez-Rodriguez, M., Lozada Ramírez, J., & Silva Pereira, T. (2025). Antioxidant Activity of Hempseed-Infused Kombucha: An In Vivo Study Using *Caenorhabditis elegans*. In *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* (Vol. 5, pp. 538–550). Blackwell Publishing Inc. <https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.4c00874>
- Rinnerthaler, M., Bischof, J., Streubel, M. K., Trost, A., & Richter, K. (2015). Oxidative stress in aging human skin. In *Biomolecules* (Vol. 5, pp. 545–589). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/biom5020545>
- Samsuar, S., & Hanifa, D. (2020). Gel Formulation of Jamblang Leaf Extract (*Syzygium cumini* L) Skeel and Antioxidant Activity. *Oriental Journal Of Chemistry*, 36, 946–953. <https://doi.org/10.13005/ojc/360521>
- Sánchez, M., Ferreira-Santos, P., Gomes-Dias, J. S., Botelho, C., Laca, A., & Rocha, C. M. R. (2023). Ohmic heating-based extraction of biocompounds from cocoa bean shell. *Food Bioscience*, 54. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102886>
- Serra Bisbal, J. J., Malero Lloret, J., Martínez Lozano, G., & Fagoaga Garcia, C. (2020). *Especies vegetales como antioxidantes de alimentos*. [https://Revistas.Ucv.Es/Nereis/Index.Php/Nereis/Article/View/577/719?Utm\\_source=chatgpt.Com](https://Revistas.Ucv.Es/Nereis/Index.Php/Nereis/Article/View/577/719?Utm_source=chatgpt.Com). [https://doi.org/10.46583/nereis\\_2020.12.577](https://doi.org/10.46583/nereis_2020.12.577)
- Silva, J. M., Peyronel, F., Huang, Y., Boschetti, C. E., & Corradini, M. G. (2024). Extraction, Identification, and Quantification of Polyphenols from the *Theobroma cacao* L. Fruit:

- Yield vs. Environmental Friendliness. In *Foods* (Vol. 13). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/foods13152397>
- Silvia, N., Rao, A. S., Kranthi, Y., Yohan, G., Saketh, D., Meghamala, G., & Kumar, K. P. (2025). Innovative Approaches for the Extraction, Purification, and Quantification of Polyphenols: A Comprehensive Review. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, 15, 725–739. <https://doi.org/10.5530/ijpi.20250192>
- Singh, S., Singh, Dr. G., & Kumar, Mr. Y. (2025). A Comprehensive Review on Pharmaceutical Gels and Their Impact on Drug Delivery Technologies. *International Journal of Pharmaceutical Research and Applications*, 10(3), 2289–2301. <https://doi.org/10.35629/4494-100322892301>
- Sulistyowati, Elya, B., Nur, S., & Iswandana, R. (2024). FORMULATION, ANTIOXIDANT, AND ANTI-AGING ACTIVITY OF RUBUS FRAXINIFOLIUS FRACTION. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 16, 121–128. <https://doi.org/10.22159/ijap.2024v16i4.51013>
- Sun, M., Deng, Y., Cao, X., Xiao, L., Ding, Q., Luo, F., Huang, P., Gao, Y., Liu, M., & Zhao, H. (2022). Effects of Natural Polyphenols on Skin and Hair Health: A Review. In *Molecules* (Vol. 27). MDPI. <https://doi.org/10.3390/molecules27227832>
- United States Pharmacopeial Convention. (2018). *United States Pharmacopeia and National Formulary (USP 41–NF 36): Combined index* (Vols. 1–5). United States Pharmacopeial Convention.
- Valentin, D., Ratnasari, D., Az-zahraa, A., Cahyani, T. N., Shella, T. P., & Adzkia, M. A. (2025). Antioxidant Activity of Gel Formulations Containing Various Plant Leaf Extracts: A Review. *Jurnal Pijar Mipa*, 20, 141–147. <https://doi.org/10.29303/jpm.v20i1.8288>
- Vargas-Arana, G., Merino-Zegarra, C., Tang, M.,ertino, M. W., & Simirgiotis, M. J. (2022). UHPLC–MS Characterization, and Antioxidant and Nutritional Analysis of Cocoa Waste Flours from the Peruvian Amazon. *Antioxidants*, 11. <https://doi.org/10.3390/antiox11030595>
- Wang, E., Qi, Z., Cao, Y., Li, R., Wu, J., Tang, R., Gao, Y., Du, R., & Liu, M. (2025). Gels as Promising Delivery Systems: Physicochemical Property Characterization and Recent Applications. In *Pharmaceutics* (Vol. 17). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics17020249>
- Wang, Z., Tang, C., Dai, F., Xiao, G., & Luo, G. (2021). HPLC determination of phenolic compounds in different solvent extracts of mulberry leaves and antioxidant capacity of extracts. *International Journal of Food Properties*, 24, 544–552. <https://doi.org/10.1080/10942912.2021.1904980>
- Wei, M., He, X., Liu, N., & Deng, H. (2024). Role of reactive oxygen species in ultraviolet-induced photodamage of the skin. In *Cell Division* (Vol. 19). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s13008-024-00107-z>
- Xu, B., Dong, Q., Yu, C., Chen, H., Zhao, Y., Zhang, B., Yu, P., & Chen, M. (2024). Advances in Research on the Activity Evaluation, Mechanism and Structure-Activity Relationships

of Natural Antioxidant Peptides. In *Antioxidants* (Vol. 13). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/antiox13040479>

Yu, M., Gouvinhas, I., Rocha, J., & Barros, A. I. R. N. A. (2021). Phytochemical and antioxidant analysis of medicinal and food plants towards bioactive food and pharmaceutical resources. *Scientific Reports*, *11*. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89437-4>

Zhang, Q., Yang, X., Wu, Y., Liu, C., Xia, H., Cheng, X., Cheng, Y., Xia, Y., & Wang, Y. (2022). In Vitro Evaluation of Kaempferol-Loaded Hydrogel as pH-Sensitive Drug Delivery Systems. *Polymers*, *14*. <https://doi.org/10.3390/polym14153205>

## ANEXOS

### Anexo A

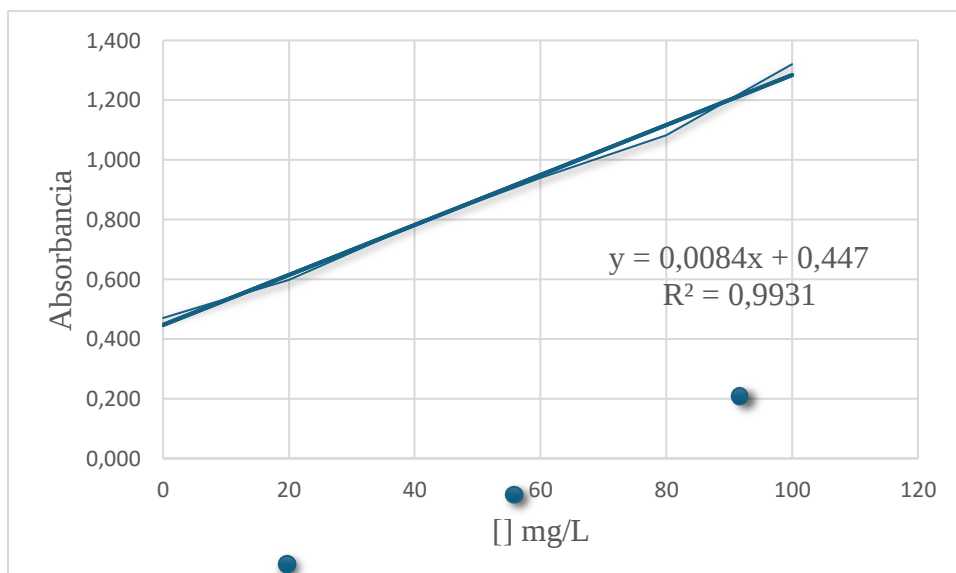
*Selección de los frutos de Theobroma cacao L., proceso de secado y molienda*



*Nota:* La cáscara de la vaina del cacao se fragmento en trozos de 1 – 2 cm

### Anexo B

*Curva de calibración del Ácido Gálico*



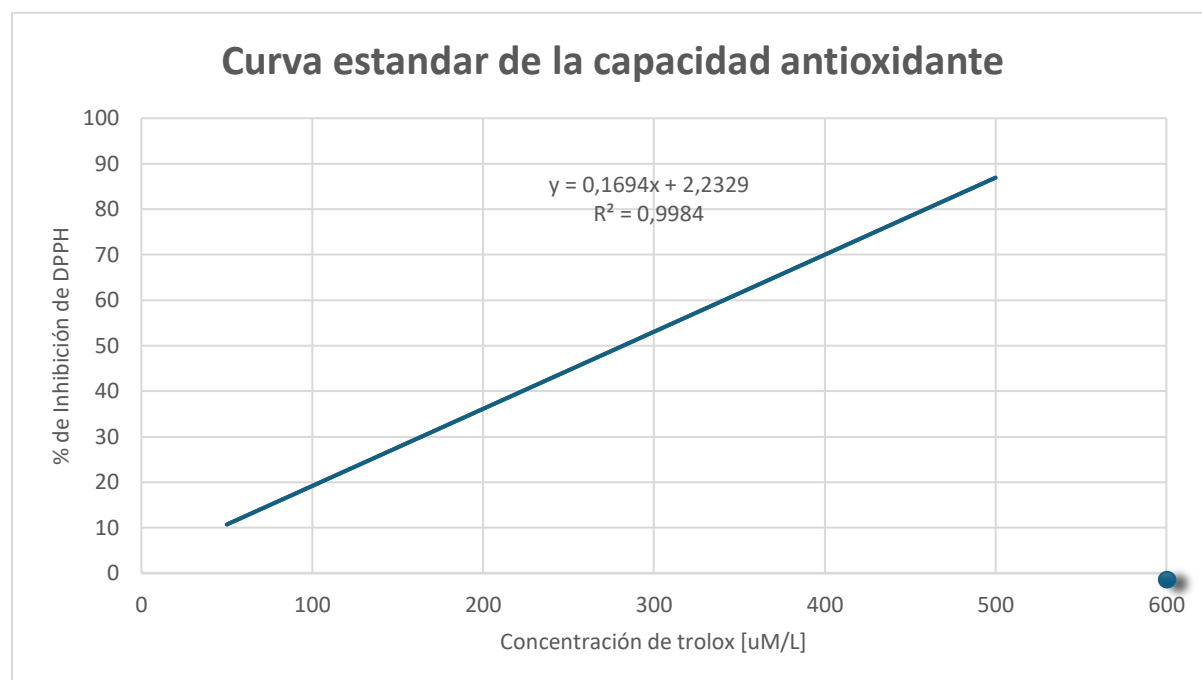
## Anexo C

*Datos para la elaboración de la curva de calibración de Trolox*

| Concentración de Trolox | Absorvancia (515 nm) | % Inhibición |
|-------------------------|----------------------|--------------|
| 50                      | 0.620                | 10.11        |
| 100                     | 0.565                | 18.79        |
| 200                     | 0.454                | 36.33        |
| 300                     | 0.342                | 54.04        |
| 400                     | 0.231                | 71.56        |
| 500                     | 0.145                | 71.56        |
| Control positivo        | 0.051                | 85.15        |
| Blanco                  | 0.684                |              |

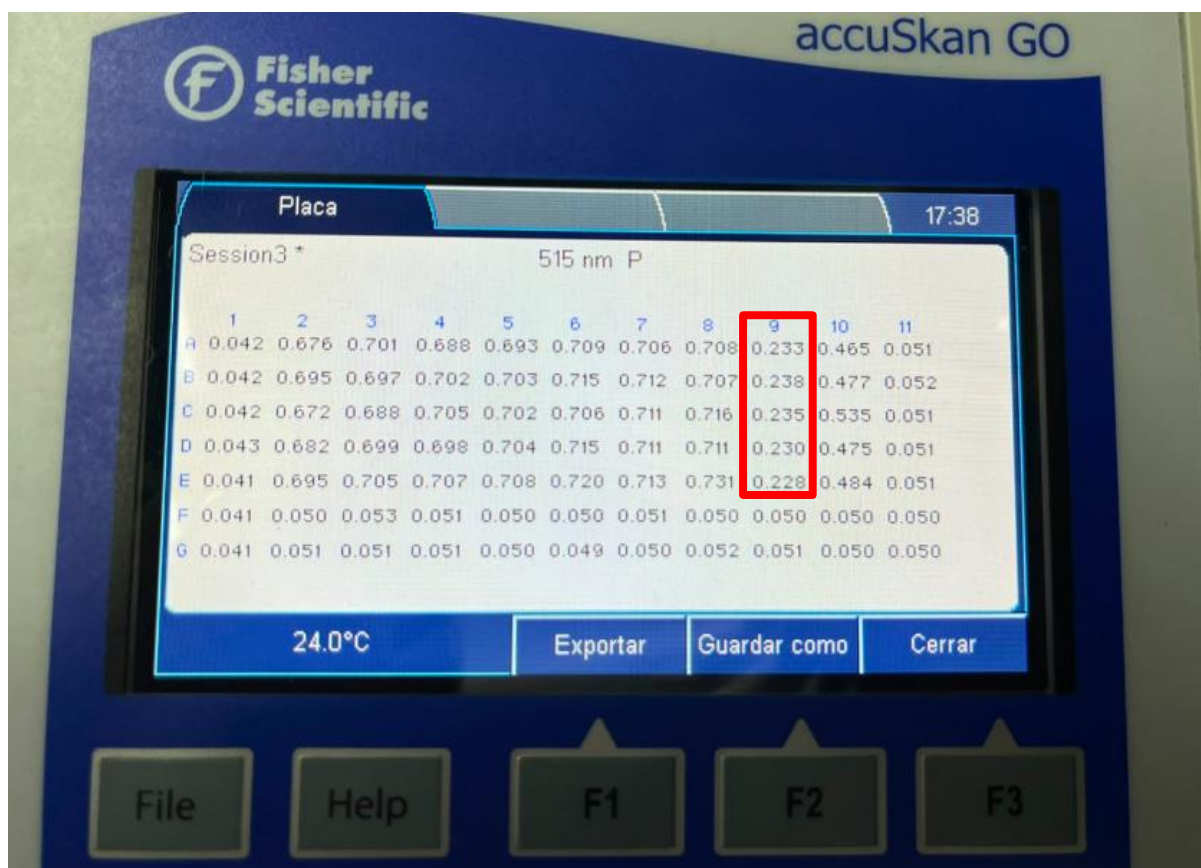
## Anexo D

*Curva de calibración de Trolox*



## Anexo E

Valores de la absorbancia correspondiente al extracto de polifenoles antes de la concentración



## Anexo F

Cálculo de las ecuaciones (3) y (4)

$$M_{polifenoles} = 19,03 \frac{mg \text{ GAE}}{mL} * 200 \text{ mL}$$

$$M_{polifenoles} = 3\,806 \text{ mg GAE}$$

$$C_{Extracto} = \frac{3\,806 \text{ mg GAE}}{44,92 \text{ g}}$$

$$C_{Extracto} = 84,73 \text{ mg GAE/g}$$

## Anexo G

*Datos de pH obtenidos de las mediciones en el potenciómetro.*

| Formulación | R1   | R2   | R3   | Promedio         |
|-------------|------|------|------|------------------|
| A           | 5.65 | 5.71 | 5.53 | $5.63 \pm 0.075$ |
| B           | 5.75 | 5.62 | 5.69 | $5.69 \pm 0.053$ |
| C           | 5.61 | 5.83 | 5.59 | $5.68 \pm 0.109$ |

*Nota.* Elaboración propia

## Anexo H

*Fotografías de evidencia los diferentes pH obtenidos*



## Anexo I

*Viscosidad obtenida de las diferentes formulaciones del gel  $cP = mPa \cdot s$*

| Formulación | R1     | R2     | R3     | Promedio |
|-------------|--------|--------|--------|----------|
| A           | 19 000 | 17 540 | 17 400 | 17 980   |
| B           | 21 320 | 22 860 | 22 420 | 22 200   |
| C           | 24 360 | 25 740 | 25 336 | 25 145   |

*Nota.* Elaboración propia

## Anexo J

*Fotografías de evidencia de las medidas de la viscosidad*



## Anexo K

*Evidencia de la prueba de extensibilidad*

